



UNIVERSIDADE DE LISBOA
Faculdade de Medicina Veterinária

PLANO PARA REDUÇÃO DO USO DE ANTIBIÓTICOS INTRAMAMÁRIOS DE SECAGEM
EM EXPLORAÇÕES LEITEIRAS NOS AÇORES (SÃO MIGUEL)

JOANA GARCIA CORREIA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutor Virgílio da Silva Almeida

Doutor George Thomas Stilwell

Doutor José Ricardo Dias Bexiga

ORIENTADOR

Doutor George Thomas Stilwell

CO-ORIENTADORA

Dra. Sílvia Manuela da Costa Almeida

2018

LISBOA



UNIVERSIDADE DE LISBOA
Faculdade de Medicina Veterinária

PLANO PARA REDUÇÃO DO USO DE ANTIBIÓTICOS INTRAMAMÁRIOS DE SECAGEM
EM EXPLORAÇÕES LEITEIRAS NOS AÇORES (SÃO MIGUEL)

JOANA GARCIA CORREIA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutor Virgílio da Silva Almeida

Doutor George Thomas Stilwell

Doutor José Ricardo Dias Bexiga

ORIENTADOR

Doutor George Thomas Stilwell

CO-ORIENTADORA

Dra. Sílvia Manuela da Costa Almeida

2018

LISBOA

Agradecimentos

De uma forma geral, gostaria de agradecer a todas as pessoas que durante este longo percurso me transmitiram a força e motivação necessárias.

A começar pelos meus orientadores, Professor George Stilwell e Dra. Sílvia Almeida, que durante todos estes meses me apoiaram em todo o processo, por me terem ensinado imenso, por toda a ajuda na escrita desta dissertação e por me tratarem sempre com tamanha amizade.

A toda a equipa da AASM – CUA, por serem uma equipa formidável e grandes companheiros.

À empresa BEL Portugal, em especial a seção responsável pelo Programa – Leite de Vacas Felizes por toda a parceria neste estudo, principalmente ao Dr. Tiago Viveiros por me ter aturado em todas essas manhãs de recolha de leite e secagens e ter proporcionado sempre um ambiente de boa disposição e amizade.

Às cinco explorações que aceitaram participar em estudo, o meu enorme obrigado.

À Zoetis Portugal pelo enorme apoio dado durante todo este estudo. Sem o seu patrocínio nada disto seria possível.

Ao laboratório Sercla, em São Miguel, pela disponibilidade e simpatia na leitura das nossas amostras.

Ao Professor Telmo Nunes, pela enorme paciência que tem com os alunos desta faculdade, um grande obrigado por toda a ajuda na análise estatística deste estudo.

Aos meus pais, Fátima Garcia e Rui Correia, por serem sempre uns verdadeiros pilares na vida desta filha e me ajudarem sempre com tudo para que seguisse este sonho de criança, sonho esse que vocês o fizeram vosso também e sempre me levantaram para continuar a lutar, mesmo apesar da distância estavam sempre presentes.

A todo o resto da minha família, que é a melhor do mundo, o meu maior obrigado. Avós, tios, primos, todos vocês e, ainda dois membros muito especiais, Noir e Faísca.

Às minhas irmãs da ilha, porque amigos também são família, em especial à Cláudia Ledo por ser sempre um enorme suporte, por ter tido a paciência de ouvir as minhas lamúrias ao longo destes anos e ainda conseguir que nos acabássemos a rir delas.

Aos meus dois Anjos da Guarda, eu sei que vocês estão sempre comigo.

A todos os meus colegas e amigos de faculdade, adorei fazer este percurso ao vosso lado. Tânia Reis e Sofia Raposo, não poderia ter escolhido mais ninguém para ter ao meu lado como irmãs de Veterinária, entre risos e choros, vocês são as melhores. Sara Sampaio, Paula Martins e Catarina Araújo, obrigada por terem pertencido ao grupo das melhores colegas de casa. E Paula, esta tese terá sempre a tua participação especial, obrigada pela amizade e união durante esta luta.

PLANO PARA A REDUÇÃO DO USO DE ANTIBIÓTICOS INTRAMAMÁRIOS DE SECAGEM EM EXPLORAÇÕES LEITEIRAS NOS AÇORES (SÃO MIGUEL)

Resumo

Numa exploração leiteira, os períodos em que as vacas estão mais suscetíveis a infeções intramamárias são o período seco e o pós-parto. Para se controlar esses dois períodos o método utilizado na secagem é um ponto muito importante. Face ao aumento das resistências aos antimicrobianos (RAM) é cada vez mais necessário implementar o método seletivo de secagem. Para a seleção dos tratamentos na secagem utilizam-se técnicas como a contagem de células somáticas (CCS), o teste californiano de mastites (TCM), a cultura bacteriológica, entre outros. Durante este estudo foi utilizado primeiro o TCM, com posterior decisão final através da CCS. O estudo foi realizado com um número de amostras de 235 quartos mamários (n=235), divididas em dois grupos consoante apresentavam CCS acima ou abaixo do patamar das 200.000 células somáticas por mililitro (CS/ml). No grupo em que os valores de CCS estavam acima de 200.000 CS/ml a secagem foi feita com antibiótico mais selante interno (Grupo AB + SEL; n=30) e no segundo grupo, em que a CCS se encontravam abaixo das 200.000 CS/ml, a secagem foi feita apenas com selante interno (Grupo SEL; n=205). Este estudo teve como objetivos 1) comprovar que o uso de selante interno na secagem de vacas de leite tem uma boa capacidade de proteção das mesmas durante o período seco e 2) comprovar que o uso de selante interno conduz a uma redução importante no uso de antibióticos intramamários de secagem. A cada vaca foram feitas colheitas individuais de cada quarto mamário para CCS em dois momentos: a primeira vez três a cinco dias antes do dia da secagem e a segunda entre os dez e os quinze dias após o parto. Foi possível observar-se uma diminuição da CCS em ambos os grupos do pré-parto para o pós-parto, não havendo diferença estatisticamente significativa entre os valores do pós-parto dos dois grupos. Assim comprovou-se a eficácia dos AB intramamários de secagem para redução das infeções existentes aquando da secagem e também se confirmou que o uso de selante interno, quando feito segundo os parâmetros corretos, é uma eficaz barreira física de defesa dos quartos mamários durante o período seco. Foi também comprovado que a utilização do método seletivo de secagem é uma forma segura de redução do uso de antibióticos e de reduzir custos.

Palavras-chave: Vaca; Resistência aos Antimicrobianos; Células Somáticas; Secagem; Antibiótico Intramamário de Secagem; Selante Interno.

REDUCTION PLAN OF THE USE OF DRYING INTRAMAMMARY ANTIBIOTICS IN DAIRY FARMS AT AZORES (SÃO MIGUEL)

Abstract

At dairy farms, the highest risk periods in which cows are more susceptible to intra-mammary infections are the dry period and postpartum. To control these periods the drying off method is very important. In view of the increase in antimicrobial resistances (AMR), it is increasingly necessary to implement the selective drying method. For the selection of drying off treatment, techniques such as somatic cell counts (SCC), the California mastitis test (CMT), the bacteriological culture and others, are used. CMT was used for first selection with a final decision being through SCC. This study was performed in a sample of 235 udder quarters (n = 235), divided into two groups depending on whether they were above or below the level of 200,000 somatic cells per milliliter (SC/ml). In the group which the SCC values were above 200,000 SC/ml, drying off was done with intramammary antibiotic plus intramammary teat sealant (Grupo AB + SEL; n=30), and the second group in which SCC was below 200,000 SC/ml, drying off was done only with intramammary teat sealant (Grupo SEL; n=205). This study had two goals 1) to prove that the use of intramammary teat sealant at drying off has a good capacity to protect udder health during the dry period and 2) demonstrate that the use of internal sealant leads to a significant reduction in the use of drying intramammary antibiotics. Four individual samples were collected for SCC from each cow, one from each udder quarter at two moments: the first three to five days before the day of drying off and the second ten to fifteen days postpartum. It was possible to observe a decrease in SCC from pre-partum to the postpartum in both groups, with no statistically significant difference between values of the two groups in the postpartum, thus confirming the efficacy of the drying off intramammary antibiotic treatment in reducing existing infections during drying and also confirming that the use of intramammary teat sealant, when done according to good practices, is an effective physical barrier of defense of the udder quarters during the dry period. It was also demonstrated that the use of this selective drying method is a way of reducing the use of intramammary antibiotics and costs in dairy farming.

Keywords: Cow; Antimicrobial Resistance; Somatic Cells; Drying; Drying Intramammary Antibiotics; Intramammary Teat Sealant.

Índice

Agradecimentos	i
Resumo	iii
Abstract.....	v
Índice	vii
Lista de Figuras	viii
Lista de Gráficos.....	viii
Lista de Tabelas	ix
Lista de Abreviaturas e Siglas	ix
Lista de Símbolos	x
I. Atividades desenvolvidas no estágio.....	1
II. Introdução.....	5
III. Revisão Bibliográfica	7
1. Células Somáticas	7
1.1. Variações na Contagem de Células Somáticas (CCS).....	7
1.1.1. Limiar de CCS: Presença ou não de infecção.....	8
1.1.2. Consequências do aumento de CCS.....	8
2. Mastite	9
2.1. Microrganismos Causadores de Mastite	9
2.2. Fatores de Risco	10
2.3. Diagnóstico de Mastite	11
2.4. Tratamento de Mastite.....	11
2.5. Prevenção de Mastite.....	12
2.5.1. Maneio da Ordenha.....	12
2.5.2. Secagem	12
2.5.3. Métodos de Secagem.....	14
2.5.4. Período Seco	15
2.5.5. Programas de controlo	16
2.6. Produtores	16
3. Resistência aos Antimicrobianos (RAM).....	17
3.1. Plano de Ação.....	18
3.2. Ponto de situação das resistências aos antimicrobianos	20
3.3. Novo Plano de Ação	23

3.4. Consumo de antimicrobianos e boas práticas	24
4. Método de secagem de vacas leiteira na ilha de São Miguel, Açores	26
5. Programa do leite de vacas felizes	26
IV. Objetivos.....	28
V. Materiais e Métodos	28
VI. Resultados.....	32
VII. Discussão	38
VIII. Conclusão.....	42
IX. Bibliografia.....	43
X. Anexos.....	48

Lista de Figuras

Figura 1: Necropsia de vitelo que morreu após diarreia e septicémia. Fotografia original.....	1
Figura 2: Necropsia de vitelo que morreu após diarreia e septicémia. Fotografia original.....	2
Figura 3: Abscesso em membro posterior de vitelo. Fotografia original.....	2
Figura 4: Prolapso uterino. Fotografia original.	3
Figura 5: Assistência a parto. Fotografia original.	3
Figura 6: Parto gemelar. Fotografia original.	3
Figura 7: Vaca com suspeita de tétano, apresentando prolapso da terceira pálpebra e posterior rigidez muscular generalizada, entre outros sinais clínicos. Fotografias originais.	3
Figura 8: Vacas em pastagem. Fotografia gentilmente cedida pelo Professor Doutor George Thomas Stilwell.....	27
Figura 9: Marca de pastagem pertencente ao Programa – Leite de Vacas Felizes. Fotografia gentilmente cedida pelo Professor Doutor George Thomas Stilwell.	27
Figura 10: Recolha de amostra de leite. Fotografia original.	30
Figura 11: Transporte das amostras de leite. Fotografia original.	30
Figura 12: Antibiótico intramamário de secagem utilizado no estudo – Orbenin Extra®. Fotografia original.	30
Figura 13: Selante interno utilizado no estudo – OrbeSeal®. Fotografia original.	30
Figura 14: Limpeza do úbere pré secagem. Fotografia original.....	31

Lista de Gráficos

Gráfico 1: Resultado do Teste ANOVA comparando médias de CCS entre explorações.	33
Gráfico 2: Diminuição da média do log ₁₀ (CCS) do pré-parto para o pós-parto, face ao tipo de tratamento.	34

Gráfico 3: Variações nas CCS entre pré e pós-parto considerando os quartos individualmente.	35
---	----

Lista de Tabelas

Tabela 1: Prevalência estimada de infecção e perdas na produção leiteira associadas com a CCS do leite de tanque, segundo Constable et al., 2017.	8
Tabela 2: Decisão da via de administração de antimicrobianos face à localização dos microrganismos patogénicos, segundo Pyörälä, 2009.	11
Tabela 3: Informações detalhadas por exploração.	29
Tabela 4: Incidência aproximada de mastites clínicas por exploração em número de animais e percentagem do efectivo total, durante o período em que decorreu o estudo.	29
Tabela 5: Valores da CCS (células somáticas por mililitro, CS/ml), em função do momento da colheita do leite.	32
Tabela 6: <i>Independent samples t-test</i> entre o logaritmo de 10 da CCS e o grupo no pré-parto.	33
Tabela 7: <i>Independent samples t-test</i> do logaritmo 10 da CCS consoante o grupo no pós-parto.	34

Lista de Abreviaturas e Siglas

AASM	Associação Agrícola de São Miguel
AB	Antibiótico
ADN	Ácido Desoxirribonucléico
ANOVA	Análise de Variância
BDCT	<i>Blind Dry Cow Treatment</i>
BTSCC	<i>Bulk Tank Somatic Cells Count</i>
CCS	Contagem de Células Somáticas
CS	Células Somáticas
CUA	Cooperativa União Agrícola
EARS – Net	<i>European Antimicrobial Resistance Surveillance Network</i>
EUA	Estados Unidos da América
FAO	<i>Food and Agriculture Organization</i>
ICSCC	<i>Individual Cow Somatic Cells Count</i>
IDF	<i>International Dairy Federation</i>
IIM	Infeção Intramamária
IRCM	<i>Incidence Rate of Clinical Mastites</i>

Log ₁₀ (CCS)	Logaritmo de Base 10 da Contagem de Células Somáticas
PBP	<i>Penicilin-binding Protein</i>
pH	Potencial de Hidrogénico
RAM	Resistência aos Antimicrobianos
RCM	Resumo das Características do Medicamento
SARM	<i>Staphylococcus aureus</i> Resistente à Meticilina
SDCT	<i>Selective Dry Cow Treatment</i>
SEL	Selante Interno
Spp.	<i>Plural Species</i>
SRM	<i>Staphylococcus</i> resistente à metilina
TCM	Teste Californiano de Mastites
TSA	Teste de Sensibilidade aos Antibióticos
UE	União Europeia
WHO	<i>World Health Organization</i>

Lista de Símbolos

CS/ml	Células Somáticas por Mililitro
+	Mais
<	Menor
>	Maior
≥	Maior ou Igual
β	Beta
%	Porcentagem
=	Igual
n	Amostra
±	Mais ou menos
nº	Número
ρ	Rho
€	Euro

I. Atividades desenvolvidas no estágio

No âmbito do estágio curricular pertencente ao Mestrado Integrado em Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa, tive a oportunidade de assistir a um grande número de casos clínicos.

Este estágio começou em Outubro de 2017 e durou até final de Fevereiro de 2018, decorreu na Associação Agrícola de São Miguel – Cooperativa União Agrícola (AASM – CUA), onde tive a honra de acompanhar ao longo destes meses a minha co-orientadora, Dra. Sílvia Almeida. Este estágio foi feito maioritariamente na área de clínica de bovinos, no panorama de clínica de campo. Na AASM, existem quatro seções por onde se dividem os médicos veterinários, a seção da sanidade animal, a da reprodução, a da nutrição e a de clínica. Face à clínica, estão diariamente em trabalho de campo cinco a seis veterinários clínicos, divididos por diferentes zonas da ilha. Existe uma central de rececionistas onde se recebem as chamadas com os diversos pedidos dos produtores/sócios e, são estas mesmas rececionistas que então irão distribuir os pedidos consoante as áreas de trabalho e, dentro da área clínica, consoante a zona.

Durante o acompanhamento à Dra. Sílvia tive a oportunidade de desenvolver componentes práticas como a execução de diagnósticos clínicos e a escolha dos tratamentos adequados a cada caso, praticar administrações por vias oral, subcutânea, intramuscular, endovenosa e intrauterina, executar fluidoterapias, desenvolver a prática de manuseamento de ruminantes, observar e colaborar em práticas cirúrgicas e em necropsias, colaborar numa eutanásia, desenvolver a comunicação com os produtores/clientes e, desenvolver a própria componente teórica.

A nível dos vitelos/vitelas os casos mais comuns a que assisti durante estes quatro meses foram as diarreias, tanto infecciosas como não infecciosas e pneumonias. Foram também comuns casos de hérnias umbilicais, onfaloflebites e poliartrites. Tive a oportunidade também de ver a resolução de um caso de abscesso no membro posterior.

Figura 1: Necropsia de vitelo que morreu após diarreia e septicémia. Fotografia original.



Figura 2: Necropsia de vitelo que morreu após diarreia e septicemia. Fotografia original.

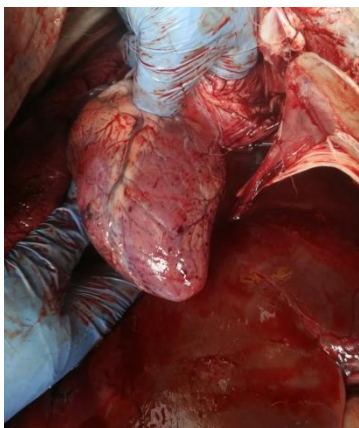


Figura 3: Abscesso em membro posterior de vitelo. Fotografia original.



Em relação a vacas leiteiras, a afeção que se destacou como mais comum foi a mastite, mas assisti também a muitos casos de diarreias, alimentares e infecciosas e, ainda pneumonias. No peri-parto assisti a vários casos de hipocalcemia (maioritariamente manifestados através da síndrome da vaca caída) e cetose. Foram também muitos os casos de assistência ao parto devido a distócias, sendo uma pequena percentagem destas por torção uterina. Tive a oportunidade de assistir também à resolução de um prolapso vaginal e de um prolapso uterino. Participei no diagnóstico e assisti a várias cirurgias de deslocamento do abomaso à esquerda e, também a alguns deslocamentos do abomaso à direita com volvo abomasal. Foram ainda assistidos poucos casos de torções intestinais, feridas no úbere, provocadas por auto-lambedura e amputação de tetos supranumerários. Observei e colaborei na remoção de algumas massas tumorais da terceira pálpebra (prováveis carcinomas) e na exérese de uma lesão localizada de provável papilomatose bovina. Tivemos também casos de problemas de úngulas, problemas nervosos e também de abscessos em vacas.

Figura 5: Assistência a parto.
Fotografia original.



Figura 4: Prolapso uterino. Fotografia original.



Figura 6: Parto gemelar. Fotografia original.



No que diz respeito a touros, os casos foram maioritariamente de doença respiratória, sendo também esta a doença que tive a oportunidade de tratar em alguns suínos.

Durantes estes meses tive a oportunidade de apanhar casos pouco comuns no meio, como foram os casos de suspeita de tétano num vitelo e numa vaca.

Figura 7: Vaca com suspeita de tétano, apresentando prolapso da terceira pálpebra e posterior rigidez muscular generalizada, entre outros sinais clínicos. Fotografias originais.



Em termos de sanidade animal, acompanhei e executei vacinações, recolha de sangue e teste intradérmicos para tuberculose.

Tive ainda a oportunidade de sair com um dos veterinários da seção de reprodução da AASM e fazer várias palpações transrectais, diagnósticos e acompanhamentos de gestação, tratamentos hormonais e, quando necessário, usar o ecógrafo portátil.

II. Introdução

A saúde do úbere é um dos pontos mais importantes na produção leiteira, sendo que para este objetivo têm que ser controlados vários fatores, como a saúde do animal como um todo, a higiene da ordenha, a nutrição, o bem-estar animal e o meio ambiente (IDF & FAO, 2013).

Um dos parâmetros utilizados para a monitorização da saúde do úbere é a contagem de células somáticas (CCS), sendo que estas são constituídas por células epiteliais de descamação da glândula mamária e, maioritariamente, por leucócitos – neutrófilos, monócitos e linfócitos. A presença de infeção no úbere é normalmente demonstrada por contagens superiores a 200.000 células somáticas/ml (≥ 200.000 CS/ml), sendo que alguns estudos apontam o patamar de 150.000 CS/ml e outros até, a contagem de 100.000 CS/ml em contagens de quartos mamários individuais (Duarte, Freitas, & Bexiga, 2015). No presente estudo foi utilizado o patamar das 200.000 CS/ml por quarto.

Ao longo dos anos tem-se tentado passar de um método de secagem das vacas não seletivo (BDCT – *Blind Dry Cow Treatment*) para um método seletivo (SDCT – *Selective Dry Cow Treatment*), tendo em conta diferentes parâmetros, sendo a CCS um deles. O aparecimento do selante interno, constituído por subnitrato de bismuto, foi um auxiliar nesta mudança (Mütze et al., 2012; Scherpenzeel, den Uijl, et al., 2016). Alguns países europeus já executaram esta mudança com resultados positivos (Vanhoudt et al., 2018). A altura da secagem, certas fases do período seco e o pós-parto são algumas das fases mais sensíveis para a saúde da vaca, sendo que especial atenção com a higiene e o bem-estar são necessárias nesses momentos (Green, Bradley, Medley, & Browne, 2007).

A perceção da necessidade de alterar o sistema de secagem começou devido a um aumento crescente das resistências aos antimicrobianos (RAM). Microrganismos multirresistentes começaram a ser uma realidade e medidas tiveram de ser implementadas, sendo que várias organizações a nível global se têm juntado para lançar planos de ação de combate a estas resistências. É necessário um uso mais racional de antimicrobianos tanto em medicina humana como em medicina veterinária, sendo que só se deve recorrer àqueles após um diagnóstico definitivo do agente causal, favorecendo o uso de fármacos de espectro reduzido, utilizando as doses corretas e a duração devida. O uso indiscriminado dos antimicrobianos é um dos fatores mais vezes apontado como favorecedor do desenvolvimento de resistências. O conhecimento e perceção das pessoas em geral deve ser também um dos pontos a trabalhar, com disponibilidade de mais formações a produtores e trabalhadores da área de produção animal e também a trabalhadores da área de animais de companhia (Centro Europeu de Prevenção e Controlo de Doenças & Agência Europeia de Medicamentos, 2015; European Commission, 2017).

Em Portugal ainda não é habitual utilizar-se o sistema seletivo de secagem, mas na comparação dos estudos da European Centre for Disease Prevention and Control de 2012 e 2017, pode evidenciar-se que tem havido um aumento das resistências aos antimicrobianos no nosso país, sendo portanto emergente a necessidade de se implementar um plano de ação. A ilha de São Miguel, Açores, não será exceção.

A empresa BEL Portugal, colaboradora neste estudo, tem tentado oferecer aos consumidores um leite conforme as suas exigências, sendo que, tal já se demonstra na criação do Programa – Leite de Vacas Felizes e na sua vontade de evoluir e melhorar não só o bem-estar das vacas, como a qualidade do produto final (Manual de boas práticas “Programa – Leite de Vacas Felizes”, 2015).

III. Revisão Bibliográfica

1. Células Somáticas

As células somáticas são constituídas maioritariamente por células epiteliais de descamação da glândula mamária e leucócitos (Sharma, Singh, & Bhadwal, 2011). Em termos mais precisos, estas células consistem em aproximadamente 11% de neutrófilos, 66% a 88% de macrófagos, 10% a 27% de linfócitos e 0% a 7% de células epiteliais. A contagem das células somáticas por mililitro de leite é a medida mais comum para o controlo da qualidade do leite e da saúde do úbere (Constable, Hinchcliff, Done, & Grünberg, 2017).

Os neutrófilos, com a sua grande capacidade fagocitária, servem como barreira de defesa inespecífica a uma possível infeção, sendo que estes são o tipo celular mais abundante na glândula mamária em situação de infeção intramamária (IIM), constituindo nessa situação cerca de 90% do total de leucócitos da glândula mamária. A gravidade e a duração da IIM está dependente da capacidade e velocidade de migração dos neutrófilos (Sharma et al., 2011; Constable et al., 2017). Os macrófagos irão facilitar as respostas imunes inatas ou adquiridas, sendo que logo após o parto a sua percentagem encontra-se mais alta (68%), enquanto mais tardiamente na lactação esta reduz-se para cerca de 21%. Os linfócitos reconhecem os antigénios podendo ativar resposta imunitária específica e as células epiteliais podem desempenhar um papel importante na digestão de antigénios fagocitados (Sharma et al., 2011).

1.1. Variações na Contagem de Células Somáticas (CCS)

A CCS é utilizada como um método de avaliação da presença de IIM, sendo que na presença de infeção o número de neutrófilos aumenta significativamente. A mastite é, sem dúvida, a causa mais importante para a variação da CCS (Sharma et al., 2011).

A altura da lactação que afeta o aumento de CCS é no pós-parto, visto que este aumento está ligado à resposta imunitária do animal em preparação para o parto e ainda à produção do colostro, essencial à sobrevivência da cria. A prevalência da infeção é também maior em vacas mais velhas e em raças como a Holstein Frisia e a Brown Swiss (Reichmuth, 1975 citado por Sharma et al., 2011). Está também descrito que situações de *stress* podem influenciar o aumento das CCS, sendo que a libertação de radicais livres pode resultar em lesões tecidulares através de peroxidação lipídica dos componentes da membrana celular, inativação ou desnaturação de enzimas desta mesma parede, entre outras (Harmon, 1994).

São vários os fatores de risco que podem aumentar a probabilidade de aparecimento de IIM, favorecendo o aumento da CCS. As condições de higiene, ou falta delas são um fator muito importante para o aparecimento de infeções. O tipo de cama, a alimentação, a manutenção e

tratamento do material de ordenha, lesões nos tetos e vacas que vertem leite constantemente (*leakers*), são também mais alguns destes fatores (Sharma et al., 2011). Mais à frente, o tema mastite será mais aprofundado.

1.1.1. Limiar de CCS: Presença ou não de infecção

Este pode ser medido por dois parâmetros, a contagem de células somáticas do leite de tanque (BTSCC – *Bulk Tank Somatic Cells Count*) e a contagem individual de células somáticas (ICSCC – *Individual Cow Somatic Cells Count*). Sendo que com o primeiro parâmetro conseguimos obter uma ideia geral da presença de infecção intramamária na exploração e no segundo consegue-se saber ao certo a situação da vaca ou de cada quarto. A colheita e leitura de amostras de cada quarto são preferidas, visto que em termos de tratamento/secagem seletiva se consegue limitar o uso de antimicrobiano ao quarto infetado (Constable et al., 2017).

Como descrito antes por Harmon (1994), depois por Smith, Hillerton e Harmon (2001) e, novamente discutido por Constable et al. (2017), vacas/quartos com CCS abaixo das 200.000 CS/ml são consideradas/os “saudáveis”, sendo este o limiar indicativo de infecção.

1.1.2. Consequências do aumento de CCS

O aumento de CCS, para além das consequências sobre a saúde e bem-estar do animal, afecta a rentabilidade da própria exploração devido à diminuição da produção (Tabela 1), ao descarte de leite e aos possíveis tratamentos, entre outros custos. Face ao produto final, o prazo de validade do leite será menor e as suas características organoléticas estarão modificadas, devido à ação enzimática (Töpel, 2004 citado por Sharma et al, 2011).

Tabela 1: Prevalência estimada de infecção e perdas na produção leiteira associadas com a CCS do leite de tanque, segundo Constable et al., 2017.

CCS em Leite de Tanque	Quartos Infetados no Rebanho (%)	Perda de Produção Leiteira (%)
200.000	6	0
500.000	16	6
1.000.000	32	18
1.500.000	48	29

2. Mastite

Tal como descrito anteriormente e de forma sucinta, a mastite é definida como uma inflamação da glândula mamária. É um problema de bem-estar animal e o maior problema económico na produção de vacas leiteiras.

Esta afeção pode dividir-se em subclínica e clínica. Na mastite subclínica não são visíveis alterações ao nível do úbere ou mesmo do próprio leite, sendo que esta só pode ser confirmada através de testes laboratoriais (como é o exemplo da CCS) e outros (e.g. Teste Californiano de Mastites). A vaca com mastite subclínica é identificada devido à sua redução na produção leiteira (10% a 26%). Na mastite clínica, para além da redução da produção, notam-se alterações ao nível do úbere, como inflamação, animal com dor ao toque, edema e rubor e alterações também ao nível da coloração e consistência do leite (por exemplo, “mais aquoso”, com presença ou não de flocos ou coágulos de fibrina). Para além destas alterações, pode haver temperatura rectal aumentada, anorexia, depressão e outros sinais clínicos, já que certos agentes de mastite provocam infeção sistémica com possível septicémia (Harmon, 1994; Constable et al., 2017).

Como apresentado por Constable et al. (2017), as perdas económicas devido a mastite estão divididas em perda de produção leiteira, leite descartado das vacas com mastite e após o tratamento, refugo e custo de reposição, mão-de-obra extra necessária para o tratamento e controlo, custos veterinários, custo dos abortos provocados por mastite clínica no primeiro trimestre, custo da diminuição da taxa de concepção devido a mastite clínica quando ocorre uma semana antes ou duas após a inseminação artificial e os custos em medidas de controlo.

Em relação à saúde humana, o risco através da ingestão não chega a existir após a adequada pasteurização, visto que esta diminui o teor de microrganismos patogénicos presentes e impede a passagem aos humanos (Oliver et al., 2005 Citado por Sharma et al, 2011).

2.1. Microrganismos Causadores de Mastite

Estes agentes dividem-se em dois grandes grupos, os microrganismos patogénicos contagiosos e os microrganismos patogénicos ambientais. Dentro dos primeiros, temos *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Mycoplasma bovis* e *Corynebacterium bovis*. Dentro dos ambientais, encontram-se o *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp. e *Trueperella pyogenes*. Outros agentes como, *Nocardia* spp., *Pasteurella* spp., *Mycobacterium bovis*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas* spp., *Serratia marcescens*, *Citrobacter* spp., espécies bacterianas anaeróbicas, fungos e leveduras, são encontrados em menores percentagens (Dingwell, Kelton, & Leslie, 2003; Constable et al., 2017).

No período seco, sendo que não existe manipulação a nível de ordenha e consequentemente há uma redução da probabilidade de contaminação entre vacas (pelos próprios operadores, pela má desinfecção de tetinas entre vacas contaminadas e não contaminadas, entre outros), os microrganismos patogênicos ambientais são mais preocupantes, mas os contagiosos não devem ser esquecidos devido à presença de infecções antigas não completamente eliminadas (Dingwell et al., 2003).

2.2. Fatores de Risco

Alguns destes fatores são comuns aos já referidos para o aumento da CCS, como é o exemplo da idade, sendo que o número de quartos infetados aumenta com a idade, atingindo o seu pico aos 7 anos, ou a época da lactação, sendo que a vaca está mais suscetível a infecção nas primeiras semanas logo após a secagem, nos últimos dias antes do parto e logo após ao parto, continuando nos dois primeiros meses de lactação (Dingwell et al., 2003; Constable et al., 2017).

Segundo Constable et al. (2017), o clima também é um fator de risco, tal como a raça, a morfologia do úbere e do teto, as características da ordenha, a higiene da ordenha e das camas e o estado nutricional. Por exemplo, quanto a este último parâmetro foi estudado que a suplementação com vitamina E e selênio melhoram as defesas e consequentemente a saúde do úbere.

Riekerink, Barkema e Stryhn (2006) utilizaram três parâmetros de monitorização da saúde do úbere através da CCS para provarem o efeito da época do ano na ocorrência de mastite clínica, durante quatro anos em rebanhos na Holanda. Aos parâmetros já mencionados BTSCC e o ICSCC, juntaram um terceiro, a taxa de incidência de mastite clínica (IRCM – *Incidence Rate of Clinical Mastitis*) e mostraram que a CCS do leite do tanque teve uma contagem mais alta nos meses de Agosto a Setembro em todos os quatro anos. Em termos da ICSCC, notou-se que vacas mais velhas têm maior predisposição para aumentarem as CCS e os meses mais problemáticos são entre Maio e Agosto. No entanto, a IRCM foi mais alta nos meses de Dezembro a Janeiro, exceto para microrganismos ambientais, como o *Streptococcus uberis* que teve maior prevalência em Agosto. Mastites por *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Streptococcus dysgalactiae* foram mais prevalentes em Dezembro a Janeiro, exceto em rebanhos totalmente confinados, sendo que nestes a *Escherichia coli* foi mais frequente no verão.

2.3. Diagnóstico de Mastite

Para além da já falada contagem de células somáticas, existe um teste mais prático e rápido para utilização em campo, o Teste Californiano de Mastites (TCM). Este baseia-se num reagente que contém um detergente que causa a rotura das células do leite e a libertação do ADN aumentando a viscosidade da mistura. Também poderá conter um indicador de pH que muda de cor quando o pH do leite aumenta acima do valor normal deste (6,6). No entanto, a CCS continua a ser mais valorizada no sentido em que nos dá valores quantitativos mais objetivos enquanto o TCM funciona mais a nível qualitativo (Constable et al., 2017).

Para tratamento adequado da afeção devem ser feito testes bacteriológicos (identificação do agente com ou sem Teste de Sensibilidade aos Antibióticos - TSA) para se saber concretamente que microrganismo patogénico se quer tratar (Barlow, 2011; Oliveira & Ruegg, 2014).

2.4. Tratamento de Mastite

Existe alguma divergência de opiniões quando se trata do tratamento com antimicrobiano intramamário, antimicrobiano sistémico ou até mesmo a combinação dos dois. A via intramamária tem o benefício de se obterem concentrações mais elevadas com atuação direta no leite/ductos. No entanto, a via sistémica tem sido reportada como a via mais eficiente para a chegada dos antimicrobianos à glândula mamária. Na realidade, a decisão médica vai depender mais do microrganismo patogénico em questão e onde este tende a alojar-se (Tabela 2) (Pyörälä, 2009).

Tabela 2: Decisão da via de administração de antimicrobianos face à localização dos microrganismos patogénicos, segundo Pyörälä, 2009.

	Leite/Ductos	Glândula Mamária	Infeção Sistémica
<i>Streptococcus agalactiae</i>	+++	---	---
Outros <i>Streptococci</i>	+++	+	---
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	+++	---
<i>Staphylococci</i> coagulase-negativo	+++	---	---
<i>Trueperella pyogenes</i>	---	++	+++
Coliformes	+	---	+++

Tal como referido anteriormente, para se saber o microrganismo com se está a lidar deve ser feita uma cultura bacteriana e um TSA, e aí então decidir a via de tratamento e qual o princípio ativo mais adequado para este tratamento. Os β -lactâmicos são os mais comumente escolhidos no tratamento de *Streptococci* e *Staphylococci*. No tratamento de *Staphylococcus aureus* é aconselhado um tratamento combinado da via sistémica e via intramamária. Quando se fala em coliformes, os princípios ativos mais utilizados são as Fluoroquinolonas e as Cefalosporinas (Pyörälä, 2009).

2.5. Prevenção de Mastite

Para prevenção de mastites devem ser implementadas uma série de medidas que se destinam a reduzir o acesso dos agentes ao interior da glândula mamária e ainda reforçar o sistema imunitário das vacas. De seguida referem-se algumas das medidas mais importantes.

2.5.1. Maneio da Ordenha

Deve ser feita a manutenção periódica da máquina, deve ser avaliada a eficiência do pessoal e fornecida formação e, muito particularmente, deve ser tomada especial atenção à higiene da sala de ordenha. Tetos e úberes sujos e/ou húmidos são um fator de risco para aparecimento de infeção. Equipamento contaminado, como as tetinas, os panos de limpeza do úbere, as mãos do ordenhador e os produtos de *dipping* são uma fonte importante de contaminação. Deve evitar-se a lavagem do úbere e tetos com água, sendo que, esta poderá escorrer e ser um veículo para bactérias até ao canal do teto. Deve ser usado um pano de secagem por vaca de modo a evitar estas contaminações e os trabalhadores devem recorrer ao uso de luvas (Constable et al., 2017).

2.5.2. Secagem

A secagem é a época em que as vacas fazem uma pausa na lactação, em grande maioria à volta de 60 dias antes do parto. Com a diminuição acentuada da duração do período seco, há uma diminuição da produção leiteira na seguinte lactação. Períodos secos mais longos levam a maior eficiência na recuperação e maior produção leiteira na subsequente lactação (Dingwell et al., 2003). Num estudo em que compararam períodos secos de 4, 7 e 10 semanas, foram encontrados resultados mais positivos com a secagem de 7 semanas (DeGraves & Fetrow, 1993, citados por Dingwell et al., 2003).

O momento da secagem, a técnica utilizada, a formação dos operadores e acima de tudo, a higiene, são pontos muito importantes que podem ter repercussões numa época muito suscetível das vacas que é o período seco que se segue. O objetivo da terapia utilizada na

secagem é reduzir a prevalência de infecções intramamárias já existentes e ainda evitar novas infecções iniciadas durante o período seco (Scherpenzeel, den Uijl, et al., 2016).

O período seco é uma altura de mudanças anatômicas e fisiológicas na vaca, principalmente na própria glândula mamária. Esta vai passar por uma involução após a paragem de produção leiteira e por um subsequente desenvolvimento mamário quando voltar a ser ativada na génese do colostro (Dingwell et al., 2003). São estas mudanças que tornam os animais mais suscetíveis a novas IIM nos primeiros dias após a secagem e nas últimas três semanas antes do parto (Green et al., 2007). A população bacteriana no interior e na pele do teto e a integridade deste são também fatores de maior suscetibilidade a novas IIM's. Daí resultar que se tomem certas precauções durante a secagem. A duração da formação do rolhão de queratina no canal do teto é um motivo de preocupação pois corresponde ao tempo em que o canal ficaria “aberto” (Comalli et al., 1984 citado por Dingwell et al., 2003). Este rolhão é formado maioritariamente por queratina, mas também por lípidos, sendo que destes, a maioria são ácidos gordos do leite (Paulrud, 2005). Após a sua formação, este serve como barreira física à entrada de microrganismos patogénicos e, estudos demonstraram que se formará entre o dia 7 e o dia 16 do período seco (Comalli et al., 1984 citado por Dingwell et al., 2003). Foi também demonstrado num estudo que comparava quartos mamários sem tratamento na secagem com quartos mamários tratados com antibiótico intramamário que, os quartos mamários que receberam antibiótico na secagem formam este rolhão de queratina muito mais rápido do que os quartos não tratados. Três anos mais tarde, outro estudo veio também sublinhar a ideia de que o uso de selante interno funcionaria tão bem quanto o antibiótico intramamário de secagem nesta mesma situação (Williamson, Woolford, & Day, 1995; Woolford, Williamson, Day, & Copeman, 1998). A utilização de selantes internos em contagens celulares baixas seria então uma mais-valia nessa perspetiva.

Fatores como o número de partos, a produção leiteira e o método para a cessação da produção afetam também esse aumento de suscetibilidade no período seco. Outros fatores a afetarem esta suscetibilidade são relacionados com a exploração, como é o caso do ambiente em que as vacas são colocadas após secagem, a qualidade e limpeza da maternidade no pré-parto, as práticas gerais da exploração face à saúde do úbere, a existência de um plano de prevenção de infeções e, claro, as infeções já presentes na glândula (Dingwell et al., 2003).

Devido a ocorrerem estes períodos de maior suscetibilidade no período seco, a técnica utilizada na secagem deve ser a mais adequada a cada vaca para evitar novas IIM's enquanto elimina as já existentes. Até há alguns anos atrás, os produtores secavam as vacas apenas pelo método não seletivo de secagem (BDCT). Hoje em dia, com o alarmante crescimento das resistências dos microrganismos aos antimicrobianos, começou-se a implementar um método

seletivo de secagem (SDCT), conceitos explicados mais à frente, sendo que, em países europeus como a Holanda, a Alemanha, o Reino Unido, a Irlanda e os países nórdicos (Dinamarca, Finlândia, Islândia, Noruega e Suécia), em que o uso de antimicrobianos está restrito, grande parte das suas explorações já aderiram a este método seletivo de secagem (Ekman & Østerås, 2003; Østerås & Sølverød, 2009; Bradley, Breen, Payne, Williams, & Green, 2010; Krömker, Grabowski, & Friedrich, 2014; Scherpenzeel, den Uijl, et al., 2016).

2.5.3. Métodos de Secagem

O BDCT baseia-se em secar todas as vacas com o recurso ao uso de antimicrobiano intramamário de secagem, adequado ao tempo de secagem, seguido ou não do uso de selante interno. Com a implementação do SDCT o que se pretende é uma seleção das vacas ou quartos mamários que precisam ou não de antimicrobiano na secagem. Esta seleção pode ser feita por TCM, pelo uso da CCS, pelo historial de mastites do próprio animal e da exploração, pela saúde do úbere na secagem ou por colheita de leite para análise bacteriana (Woolford et al., 1998; Ekman & Østerås, 2003; Cameron et al., 2015; Kiesner, Wenthe, Volling, & Krömker, 2016; Scherpenzeel, den Uijl, et al., 2016; Vanhoudt et al., 2018). Grande parte dos estudos basearam-se no patamar das 200.000 CS/ml, alguns ainda separaram as primíparas com 150.000 CS/ml e as múltiparas com 250.000 CS/ml, sendo que então as vacas acima do patamar estipulado seriam secas com antimicrobiano, com ou sem o seguinte uso de selante interno e, as vacas abaixo do patamar seriam secas apenas com selante interno.

O selante interno é composto por subnitrato de bismuto numa base oleosa colocado no canal do teto, não havendo qualquer absorção mamária do produto. Este selante foi formulado para ser usado em vacas de baixa CCS como alternativa à terapia com antimicrobiano de secagem e, tem a finalidade de criar uma barreira física à entrada de microrganismos (Berry & Hillerton, 2002). O funcionamento dos selantes internos tem sido alvo de investigação há algum tempo. Woolford et al. (1998) estudou um grupo de 528 vacas com contagem de células somáticas abaixo das 200.000 CS/ml tratadas com selante interno e verificaram que a incidência de novas infeções na subsequente lactação era mínima, o que aparentava que os selantes internos ofereciam a mesma eficácia profilática que o uso de antimicrobiano. Berry e Hillerton (2002) compararam dois grupos com baixa contagem celular, em que num grupo as vacas foram secas com selante interno e no outro grupo não foram tratadas de todo. Estes autores verificaram que o aparecimento de IIM's foi muito maior no grupo das vacas não tratadas. Mütze et al. (2012) comparou um grupo com secagem apenas por antimicrobiano com outro que foi seco com antimicrobiano + selante interno e no pós-parto usaram o TCM e verificaram que no grupo composto pelos dois elementos houve uma menor prevalência de

novas IIM's do que no grupo que levou só antimicrobiano. Krömker et al. (2013) compararam grupos tratados com selante interno e grupos não tratados e confirmaram o benefício do uso de selante interno em vacas com baixa CCS. Cameron et al. (2015) usaram um método de cultura bacteriana para verificarem a presença ou não de microrganismos nas vacas para secagem e, posteriormente, secavam as vacas com cultura positiva com antimicrobiano + selante interno, as de cultura negativa apenas com selante interno e um terceiro grupo com vacas controle que eram secas sem seleção (BDCT) com antimicrobiano e selante interno. Os resultados obtidos comprovaram que as vacas com secagem seletiva não evidenciaram modificações no pós-parto, não havendo diferenças depreciativas comparadas com as vacas secas sem seleção.

O uso de selante interno tem que ser executado de maneira cuidada, daí que seja importante a formação dos trabalhadores. A higiene na altura da colocação é um fator muito importante e de especial atenção, visto que, a colocação do selante interno não deve ser uma fonte de entrada para os microrganismos. Devem ser utilizadas luvas pelos operadores e as toalhetas de desinfecção devem ser reservadas a cada teto, tentando atingir o máximo de assepsia possível (Woolford et al., 1998; Berry & Hillerton, 2002).

Após a mudança de BDCT para SDCT, a Holanda fez alguns estudos para tentar perceber o efeito que esta mudança teve nas explorações e acabou por perceber que houve uma grande diminuição no uso de antimicrobianos e que a utilização de uma secagem seletiva não levou a efeitos deletérios na saúde do úbere (Santman-Berends, Swinkels, Lam, Keurentjes, & van Schaik, 2016; Scherpenzeel, den Uijl, et al., 2016; Vanhoudt et al., 2018).

2.5.4. Período Seco

Como visto anteriormente, o período seco e o peri-parto são das épocas mais suscetíveis no ciclo de uma vaca e, como tal, tem que lhes ser dada uma especial atenção. A probabilidade de novas IIM's durante o período seco pode dever-se à suscetibilidade individual de cada vaca, à exposição a microrganismos patogénicos ambientais ou à reduzida eficácia do método de secagem (Green et al., 2007).

Vacas com IIM na altura da secagem têm maiores probabilidades de parirem com mastite, sendo esta causada pelo mesmo agente ou por algum outro agente oportunista. Como já referido as vacas com $CCS \geq 200.000$ células/ml têm maior probabilidade de parirem com IIM (Green et al., 2007). O aumento do número de partos também aparenta ser um fator no aumento da suscetibilidade a novas IIM (Green, Green, Medley, Schukken, & Bradley, 2002; Whist, Østerås, & Sølverød, 2006). Green et al. (2007) demonstrou que vacas em pastoreio com política de rotação de pastagens tinham uma menor taxa de novas infeções no pós-parto e

o mesmo estudo concluiu que explorações que tinham o princípio de ordenhar as suas vacas nas seis horas antes do parto também tinham uma menor incidência de novas infeções no pós-parto, mas as razões para tais resultados ainda não são compreendidas. Questões de higiene são um grande ponto de preocupação, porque faltas da mesma na altura da secagem, na mudança e limpeza das camas e instalações durante o período seco e na área reservada para o parto, levam a um aumento de mastites clínicas no pós-parto.

2.5.5. Programas de controlo

Em 2002, na Suécia, foi criado um programa preventivo de mastite e para terapia de secagem, chamado FRISKKO (HealthyCow), que se baseava em boa manutenção das casas/camas, animais limpos e bem alimentados, registos atualizados da saúde animal e do úbere em particular, uso destes registos para as vacas saudáveis serem ordenhadas antes das contaminadas, uma boa e estável técnica de ordenha, o equipamento da ordenha mantido em condições, uso de pos-dip, uso de secagem seletiva (com uma política restrita do uso de antimicrobianos e com culturas bacterianas) e abate de vacas recorrentemente infetadas e/ou com várias tentativas de tratamento (Ekman & Østerås, 2003).

Em 2009, foi a vez da Noruega lançar o seu próprio programa de controlo de mastites que englobava em grande parte os mesmo pontos que a versão Sueca, salientando a não existência de contacto entre vacas sãs e vacas infetadas (Østerås & Sølverød, 2009).

O National Mastitis Council, nos Estados Unidos da América atualizaram recentemente o seu programa de controlo de mastite, na versão internacional, que anteriormente tinha 5 passos e agora passou a ter 10 passos muito mais completos e aptos às novas restrições e baseiam-se em estabelecer metas para a saúde do úbere, manutenção de um ambiente confortável, limpo e seco, procedimentos de ordenha adequados, apropriado uso e manutenção do equipamento de ordenha, bons registos da exploração, tratamento adequado de casos de mastite clínica durante a lactação, método de secagem efetivo, manutenção de biossegurança para agentes contagiosos e resolução face a vacas cronicamente infetadas, monitorização regular da saúde do úbere e revisão periódica do programa de controlo de mastite (National Mastitis Council, 2009).

2.6. Produtores

A atitude dos produtores face à opção da secagem seletiva é um ponto de grande importância na aceitação e na efetividade da mesma. Sendo que são eles a efetuarem as secagens nas suas explorações, têm que estar disponíveis para novas aprendizagens e ações de formação. Na Holanda, Scherpenzeel, Tijds, et al. (2016) publicou um estudo em que haviam sido feitos

questionários aos produtores sobre o método de seleção usado por eles para a secagem, a relação entre a secagem seletiva e a saúde do úbere e o uso de antimicrobianos. Notou-se que a adesão ao método foi crescendo gradualmente e que a maioria dos produtores optava pela CCS e pelo historial clínico como seleção para o método de secagem. A saúde do úbere não teve grandes mudanças face ao uso de BDCT, mas o uso de antimicrobianos diminuiu. As maiores barreiras na cabeça dos produtores tratavam-se das consequências financeiras do método SDCT, a incerteza sobre se uma vaca recuperaria do período seco sem antimicrobianos, a dúvida sobre se teriam ou não alguma problema com as consequências negativas da SDCT e o uso de selantes internos. Em 2013 já 75% das explorações da Holanda tinham aderido à secagem seletiva, sendo que esses números mostram um avanço positivo nas mentalidades (Scherpenzeel, Tijs, et al., 2016).

3. Resistência aos Antimicrobianos (RAM)

Os antimicrobianos são substâncias ativas de origem natural ou sintética que têm como finalidade eliminar ou inibir o crescimento de microrganismos. Estes são utilizados em medicina para tratamento ou prevenção de doenças infecciosas, principalmente de origem bacteriana. Dentro do grupo dos antimicrobianos incluem-se os antibióticos, os antivirais, os antifúngicos e os antiprotozoários (European Commission, 2017). Dentro deste grande grupo, o grupo que se encontra mais suscetível a resistências nos últimos anos é o grupo dos antibióticos, não sendo, no entanto, o único. Este é o grupo de fármacos utilizados para tratamento de infeções provocadas por bactérias (World Health Organization, 2015b; European Commission, 2017).

Desde a descoberta da penicilina em 1928 que os antimicrobianos têm sido imprescindíveis na sociedade e na economia. Afeções que antes chegavam mesmo a matar, após esta descoberta eram facilmente resolvidas. Estas descobertas foram revolucionárias, mas com o consequente uso excessivo e inapropriado, a sua eficácia passou a estar em risco. Tem sido observado um aumento emergente de bactérias multirresistentes que se tem tornado uma ameaça à saúde global, o que levou organizações mundiais a juntarem esforços e começarem a agir. Este aumento da resistência aos antimicrobianos resulta da capacidade dos microrganismos se tornarem progressivamente resistentes a antimicrobianos a que outrora eram suscetíveis e é uma consequência da seleção natural e das mutações genéticas (European Commission, 2017). Na origem podem estar a ausência ou imperfeição de programas para prevenção ou controlo de infeções, o não uso ou a fraca capacidade laboratorial, a vigilância inadequada e a insuficiente regulamentação do uso de antimicrobianos (World Health Organization, 2015c). Fatores humanos, como o uso inapropriado destes antimicrobianos na medicina humana e na

veterinária, falta de condições de higiene e más práticas na área da saúde ou da cadeia alimentar que facilitam a transmissão de microrganismos resistentes, intensificam também este aumento de resistências (European Commission, 2017). O uso inapropriado dos antimicrobianos pode ser devido a fraca prática clínica, prescrição de antimicrobianos quando não necessários ou uso do medicamento incorreto ou na dose incorreta, a auto-medicação em países com disponibilidade gratuita destes, a falha em terminar os tratamentos antimicrobianos ou por contrário, o prolongar o seu uso, a existência de poucas regulamentações para trabalhadores na área da saúde e o uso incorreto ou em demasiada na área da produção animal e agricultura (World Health Organization, 2015a).

Este aumento da RAM tem acontecido a um nível global e engloba um amplo espectro de microrganismos, cuja prevalência ameaça a saúde humana e a animal diretamente com aumento do tempo de cura, aumento da mortalidade, aumento do período de internamento, diminuição da proteção/prevenção aquando de cirurgias e procedimentos médicos e aumento dos custos (World Health Organization, 2015a; European Commission, 2016b).

O aumento da RAM tem provado ser uma ameaça séria à saúde pública com a morte de vinte e cinco mil pacientes por ano na União Europeia (UE) devido a infeções provocadas por bactérias multirresistentes e estima-se que globalmente este número possa atingir as setecentas mil pessoas. Se esse aumento não for travado estima-se que entre 2015 e 2050 estas mortes aumentem para os dez milhões por ano a nível global, sendo que destas, setecentas mil seriam na América do Norte e na Europa. Também a nível económico, atualmente, as perdas são enormes, sendo apontado uma perda de um bilião e meio por ano na UE (Centro Europeu de Prevenção e Controlo de Doenças & Agência Europeia de Medicamentos, 2015; European Commission, 2017). A RAM não tem só aumentado o aparecimento de doenças, a mortalidade e os custos económicos, mas também tem vindo a reduzir a capacidade de salvaguardar a saúde e o bem-estar animal, sendo que esta redução vai ter repercussões na saúde pública e na segurança alimentar (European Commission, 2016b).

3.1. Plano de Ação

Desde 2001 que a preocupação com a RAM tem vindo a aumentar. Entretanto, a World Health Organization (WHO) desenvolveu um plano de ação global com vista a combater este aumento de resistências e, com o propósito de posteriormente todas as suas regiões aderentes fazerem o seu próprio plano. O objetivo deste plano seria melhorar a informação e a perceção sobre a RAM, fortalecer o conhecimento através da vigilância e da pesquisa, reduzir a incidência da infeção, otimizar o uso de antimicrobianos para garantir o investimento sustentável contra esta resistência (World Health Organization, 2015a). O objetivo principal é

atingir a chamada “Uma Só Saúde” (do inglês “One Health”). Este termo é usado para descrever um princípio que pressupõe que a saúde humana e a animal estão interligadas, que as afeições destes são transmitidas de um grupo para o outro. Este termo também menciona o ambiente como outro elo de ligação entre humanos e animais (European Commission, 2017).

No que diz respeito à UE, em 2001 no conselho das comunidades europeias foi traçado o plano estratégico das comunidades contra a resistência aos antimicrobianos que fornecia instrumentos de trabalho contra a RAM em quatro áreas distintas: a vigilância, a prevenção e o controlo, pesquisa e desenvolvimento de novos produtos e a cooperação internacional. Este compromisso foi renovado em 2011 com o então chamado plano de ação contra o aumento da RAM. Este plano foi pensado para um período de cinco anos, expirando em 2016 (European Commission, 2001, 2016b). Este plano de ação foi traçado com os seguintes objetivos: pôr em prática táticas efetivas para prevenir as infeções por microrganismos e a sua propagação; acabar com o risco do desenvolvimento das resistências em humanos, promovendo o uso de diagnóstico microbiológico aquando da possibilidade de uso de antimicrobiano, tanto em humanos como em animais; desenvolver novos antimicrobianos ou alternativas de tratamento; reforçar a base científica acerca dos microrganismos e arranjar medidas inovadoras para combate à RAM; melhorar o conhecimento através da comunicação, educação e treino; melhorar a monitorização e vigilância da RAM e do consumo de antimicrobianos; e, juntar forças com parceiros internacionais para conter o risco de transmissão das resistências aquando das trocas e viagens internacionais (European Commission, 2016b).

Num período de dois anos (2013 a 2014) a World Health Organization (WHO) executou uma análise da situação por país de modo a tentar perceber quais as práticas impostas para a RAM já estabelecidas e que falhas continuavam. Os pontos focados foram o uso de um plano nacional, a capacidade laboratorial para manter vigilância sobre os microrganismos resistentes, perceção e acesso a informação por parte do público em geral e programas efetivos de prevenção e controlo de infeções. Regiões mais desenvolvidas, como a Europa e o Pacífico Ocidental reportaram maiores taxas de acesso a medicina de alta qualidade do que as outras regiões. Chegaram também à conclusão de que a venda de antimicrobianos sem prescrição é bastante difundida em vários países e que a perceção da situação pelo público continua baixa em todas as regiões (World Health Organization, 2015c). Em Portugal a venda de antimicrobianos é de prescrição obrigatória ((European Centre for Disease Prevention and Control, 2017b).

Após a implementação do plano em 2011, em 2015 foi realçado que 40% dos países europeus reportaram já ter um plano de ação nacional e as campanhas para o público eram comuns, sendo que 79% dos países as tinham implementado, mas ainda com fraco conhecimento por

parte da população. Na UE a vigilância sobre a resistência das bactérias é feita através da plataforma EARS-Net, que é gerida pelo Centro Europeu para Prevenção e Controlo de Doenças (World Health Organization, 2015c). Os objetivos da EARS-Net são recolher dados da RAM comparáveis e validados, analisar as tendências da RAM na Europa a nível temporal e espacial, fornecer informação atualizada da RAM para suportar decisões políticas, encorajar a implementação, manutenção e melhoramento de planos a nível nacional e apoiar os sistemas nacionais no seu esforço para melhorar a eficácia de diagnóstico na cadeia de vigilância, oferecendo uma avaliação de qualidade externa anual. A EARS-Net recolhe e fornece informação sobre sete bactérias importantes para a saúde pública, *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Pseudomonas aeruginosa* (European Centre for Disease Prevention and Control, 2012).

3.2. Ponto de situação das resistências aos antimicrobianos

Em 2012, na informação fornecida ao EARS-Net pela Europa, na vigilância da RAM (correspondente ao ano de 2011) e em comparação com dados desde 2008 a 2011, os resultados mostraram um aumento na UE de resistência a antimicrobianos por microrganismos patogénicos gram-negativos, como *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Pseudomonas aeruginosa*, enquanto a resistência por microrganismos patogénicos gram-positivos, como *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecium* e *Enterococcus faecalis* estava aparentemente estável. Em 2011, a evidência mais alarmante do aumento das resistências na Europa veio de informação sobre resistência combinada a cefalosporinas de terceira geração, fluoroquinolonas e aminoglicósidos por *E. coli* e por *K. pneumoniae*. Por outro lado, informação sobre *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina, a *Streptococcus pneumoniae* e a *Enterococci* mostrou que o aumento de resistências nestes se mantém estável, o que poderá significar que os esforços nacionais para controlo de infeções e de resistências têm sido eficazes (European Centre for Disease Prevention and Control, 2012; European Commission, 2016b).

No ano de 2015, a informação obtida pela Comissão Europeia, revelou que a situação face aos microrganismos patogénicos gram-negativos (*E. coli*, *K. pneumoniae* e *P. aeruginosa*) continuava preocupante, com o aumento das percentagens de resistência em muitas partes da Europa. As resistências nos microrganismos patogénicos gram-positivos (*Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (SARM)) mostraram um padrão mais diverso em toda a Europa, do que em 2011, sendo que, no entanto, as resistências para SARM diminuíram nestes quatro anos,

passando de 18,6% em 2011 para 17,4% em 2014. As resistências combinadas de *E. coli* e de *K. pneumoniae* às cefalosporinas de terceira-geração, às fluoroquinolonas e aos aminoglicosídeos continuavam muito comuns (European Commission, 2015; European Centre for Disease Prevention and Control, 2015, 2017a).

Na informação recolhida pelo Centro Europeu para Prevenção e Controlo de Doenças sobre a vigilância da RAM na Europa, no ano de 2016, mas face ao período de 2013 a 2016, continuou a observar-se muita variação a nível da resistência das bactérias dependendo da espécie desta, do grupo antimicrobiano em questão e da região geográfica. Em geral, as zonas a norte da Europa reportaram percentagens mais baixas de resistências do que as regiões a sul e a leste da Europa, podendo estas diferenças ser devidas a variações no uso dos antimicrobianos, práticas de prevenção e controlo de infeções e diferenças nos padrões de diagnóstico e cuidados de saúde nos diferentes países (European Centre for Disease Prevention and Control, 2017b).

Escherichia coli desenvolveu resistência aos antimicrobianos de diferentes formas. Em relação às fluoroquinolonas, as resistências apareceram devido a mutações. *E. coli* tem a capacidade de produção de β -lactamases de largo espectro, sendo que é com essas enzimas que ganha resistência à maior parte dos antibióticos β -lactâmicos, incluindo as cefalosporinas de terceira geração. Uma recente ameaça de *E. coli* é a produção de carbapenases, que lhe fornece resistência ao carbapenem, sendo que este resistia ao efeito das β -lactamases de largo espectro. Ao nível da UE, nos dados reportados ao EARS-Net em 2016, 58,6% de *E. coli* isoladas eram resistentes a pelo menos um dos grupos de antibióticos sob vigilância (aminopenicilinas, fluoroquinolonas, cefalosporinas de terceira geração, aminoglicosídeos e carbapenems). Em relação a Portugal, mais concretamente, a percentagem de isolados de *E. coli* resistentes às fluoroquinolonas estava no intervalo de 25% a 50%. Face às cefalosporinas de terceira geração, Portugal encontrava-se no intervalo de 10% a 25%. No que diz respeito aos aminoglicosídeos, encontrava-se também no intervalo dos 10% aos 25%. No grupo dos carbapenems, a percentagem de *E. coli* isolada com resistência a estes, em Portugal era <1%. E em relação à resistência combinada às cefalosporinas de terceira geração, fluoroquinolonas e aminoglicosídeos, Portugal encontrava-se no intervalo dos 5% a 10% (European Centre for Disease Prevention and Control, 2017b).

No que diz respeito a *Klebsiella pneumoniae*, esta é também resistente a vários antimicrobianos, se bem que no seu caso as resistências são frequentemente adquiridas por plasmídeos. Em contraste com *E. coli*, *K. pneumoniae* tem uma β -lactamase de classe A codificada no seu cromossoma, o que lhe concede resistência intrínseca às aminopenicilinas,

sendo que também muitas das β -lactamases de largo espectro encontradas em *E. coli* foram anteriormente encontradas em *K. pneumoniae*. Ao nível europeu 34,5% dos isolados de *K. pneumoniae* no ano de 2016 eram resistentes a pelo menos um dos grupos de antibióticos sob vigilância. No panorama de Portugal, a percentagem de isolados de *K. pneumoniae* resistentes às fluoroquinolonas encontrava-se entre os 25% e os 50%. Dentro do mesmo intervalo encontravam-se também, o grupo das cefalosporinas de terceira geração e o dos aminoglicosídeos. Face ao grupo dos carbapenems, a percentagem de isolados com resistência a estes, estava no intervalo dos 5% aos 10%. Nas resistências combinadas a fluoroquinolonas, cefalosporinas de terceira geração e aminoglicosídeos, o intervalo de percentagens era de 25% a 50% (European Centre for Disease Prevention and Control, 2017b).

Tal como acontece com as duas anteriores, *Pseudomonas aeruginosa* é uma bactéria gram-negativa, oportunista e uma das principais causadoras de infeções em pacientes hospitalizados com falhas imunitárias. Na Europa 33,9% dos isolados de *P. aeruginosa* eram resistentes a pelo menos um dos grupos de antibióticos sob vigilância (piperacilina±tazobactam, fluoroquinolonas, ceftazidima, aminoglicosídeos e carbapenems). No contexto de Portugal, a percentagem de isolados de *P. aeruginosa* resistentes a piperacilina±tazobactam, encontrava-se no intervalo de 10% a 25%. Em relação aos restantes grupos, fluoroquinolonas, ceftazidima, aminoglicosídeos e carbapenems, a percentagem de isolados em Portugal encontrava-se também entre os 10% a 25%. Face a isolados de *P. aeruginosa* com resistências combinadas a três ou mais dos anteriores grupos, a percentagem encontrava-se novamente no intervalo de 10% a 25% (European Centre for Disease Prevention and Control, 2017b).

Staphylococcus aureus é uma bactéria gram-positiva que adquire resistência à meticilina e a todos os outros β -lactâmicos através da expressão do gene exógeno *mecA* ou, menos frequentemente, o *mecB*. Estes codificam uma variante da proteína de ligação à penicilina com fraca afinidade para β -lactâmicos e com capacidade de substituir a função das outras proteínas de ligação, prevenindo assim a inibição da síntese da parede celular pelos β -lactâmicos. A nível da UE a percentagem de SARM em 2016 foi de 13,7%, tendo diminuído no período de 2013 a 2016. Em Portugal, a percentagem de isolados de SARM encontrava-se no intervalo de 25% a 50% (European Centre for Disease Prevention and Control, 2017b).

O género *Enterococcus* é composto por *Enterococcus faecalis* e por *Enterococcus faecium*. Ambos têm um alto nível de resistência à gentamicina e alguma resistência à vancomicina. No que diz respeito a *E. faecalis* a nível da UE em 2016, a percentagem de alta resistência à gentamicina encontrava-se nos 30,5%, sendo que, ao nível de Portugal esta percentagem situava-se entre os 25% e os 50%. A resistência à vancomicina por *E. faecalis* continuou baixa na maioria dos países. Em relação a *E. faecium*, na maior parte dos países a resistência

em alto nível aos aminoglicosídeos foi superior do que a do *E. faecalis* e, face à resistência à vancomicina a nível europeu, esta teve uma percentagem média de 11,8%, com a percentagem para Portugal contida no intervalo de 5% a 10%. (European Centre for Disease Prevention and Control, 2017b).

Em 2012 foi conduzido um estudo em Portugal para tentar compreender o ponto de situação das resistências face aos agentes patogénicos de mastite do género *Streptococci*. Este estudo concluiu que a maior parte dos isolados deste género apresentava resistências à classe dos aminoglicosídeos (principalmente a estreptomicina e a gentamicina), aos macrólidos, às lincosamidas (pirlimicina) e às tetraciclinas (Rato, Bexiga, Florindo, Cavaco, & Vilela, 2013).

Posteriormente, em 2013 foi conduzido um outro estudo de modo a compreender o mesmo ponto de situação face aos isolados de *Staphylococcus* resistente à meticilina (SRM). Neste caso para além da resistência à classe dos β -lactâmicos, estes isolados apresentaram também resistência ao ácido nalidíxico, às tetraciclinas e aos aminoglicosídeos (principalmente à estreptomicina, canamicina e tobramicina) (Seixas, Santos, Bexiga, Vilela, & Oliveira, 2014).

3.3. Novo Plano de Ação

Em 2016, após a avaliação dos anteriores cinco anos e como pedido pelos estados-membros, o conselho da comissão europeia lançou um novo plano de ação com base no tema da “Uma Só Saúde”. A avaliação dos resultados concluiu que o plano de 2011 tinha aberto um caminho de mudanças, mas que os problemas existentes na altura continuam a ser relevantes em 2016. A formulação deste novo plano de ação baseou-se também num questionário ao longo do mapa europeu, tanto à população como a organizações e associações. As respostas em geral apoiavam um novo plano de ação para a “Uma Só Saúde” e a importância de uma abordagem compreensiva. O objetivo principal e mais importante deste plano é preservar a possibilidade de um tratamento efetivo de infeções tanto em medicina humana como em veterinária (European Commission, 2017).

Os doze passos deste plano de ação eram os seguintes:

“Ação nº1: Fortalecer a promoção do uso apropriado de antimicrobianos em medicina humana em todos os estados-membro.

Ação nº2: Fortalecer a regulamentação em medicina veterinária e em alimentação medicamentosa.

Ação nº3: Introduzir recomendações para o uso prudente em medicina veterinária, incluindo relatórios de acompanhamento.

Ação nº4: Fortalecer a prevenção e controlo de infeções no meio da saúde.

Ação nº5: Adoção de uma proposta para uma lei de saúde animal na UE.

Ação nº6: Promover, numa abordagem por etapas, esforços de colaboração e desenvolvimento para descoberta de novos antibióticos.

Ação nº7: Promover esforços para analisar a necessidade de novos antibióticos na medicina veterinária.

Ação nº8: Desenvolver e/ou fortalecer compromissos bilaterais ou multilaterais, para a prevenção e controlo da RAM em todos os setores.

Ação nº9: Fortalecer os sistemas de vigilância na RAM e no consumo antimicrobianos na medicina humana.

Ação nº10: Fortalecer os sistemas de vigilância na RAM e no consumo antimicrobianos na medicina veterinária.

Ação nº11: Reforçar ou coordenar esforços de pesquisa.

Ação nº12: Comunicação, educação e treino: Questionário e pesquisa comparativa. (European Commission, 2016a).

3.4. Consumo de antimicrobianos e boas práticas

O consumo de antimicrobianos a nível mundial é maior e provavelmente mais preocupante na área da produção/medicina animal, do que propriamente na medicina humana. Nos EUA este sector é responsável por 80% do consumo anual total. Ainda a nível mundial apenas 2% dos países implementaram um plano nacional para combater a RAM e menos de 40% dos países puseram em prática programas de prevenção e controlo para a RAM. Ao nível da UE, o consumo de antibióticos específicos para o tratamento de bactérias multirresistentes duplicou entre 2010 e 2014 e, por outro lado, houve uma diminuição do consumo de antibiótico em seis países, Dinamarca, Estónia, Finlândia, Luxemburgo, Espanha e Suécia. O consumo de antibióticos em animais diminuiu 12% em vinte e quatro países europeus entre 2011 e 2014, mas com grandes diferenças entre países (European Commission, 2017).

Em Portugal, todos os produtos medicamentosos contendo antimicrobianos são medicamentos apenas vendidos sob prescrição médica. Estes incluem misturas premix que contêm substâncias farmacêuticas ativas, como os antimicrobianos. Todos estes produtos têm que ser acompanhados de prescrição veterinária oficial. A distribuição de antimicrobianos em Portugal no ano de 2013 foram 179,8 toneladas, sendo que destas 0,5 toneladas eram comprimidos e os restantes 179,4 toneladas eram nas restantes formulações farmacêuticas. O antibiótico mais vendido em Portugal no ano de 2013 foi a tetraciclina, com uma grande

distância dos outros antibióticos, seguidas em segundo lugar pelas penicilinas e em terceiro pelos macrólidos (European Centre for Disease Prevention and Control, 2017b).

Para se utilizar antimicrobianos devem seguir-se as regras nacionais e da UE e, acima de tudo, deve agir-se em conformidade com as informações indicadas, tanto no resumo das características do medicamento (RCM), como no folheto informativo e no rótulo. A utilização dos antimicrobianos deve ser feita de forma racional e com base num diagnóstico definitivo, que engloba o diagnóstico clínico, os resultados do teste de suscetibilidade microbiológica e utilizando um antimicrobiano de estreito espectro, devendo evitar-se antimicrobianos de largo espectro e combinações de antimicrobianos. A metafilaxia antimicrobiana nunca deve ser utilizada em substituição de boas práticas de gestão, mas apenas quando existir uma necessidade real de tratamento e com justificação do veterinário. A profilaxia deve ser reservada para casos específicos excecionais. Os animais doentes devem ser isolados e tratados individualmente. A utilização de medicamentos autorizados apenas para uso humano, só podem ser utilizados em animais excepcionalmente e se esta constar no quadro 1 do anexo do Regulamento UE nº37/2010 da Comissão Europeia. O tratamento do animal deve ser feito seguindo as orientações do médico veterinário e este deve efetuar reavaliações periódicas a fim de comprovar a necessidade ou não de continuação de tratamento. Sempre que possível e com eficácia comprovada, deve optar-se por estratégias de controlo, em vez de tratamento antimicrobiano, devendo acompanhar-se sempre o sistema de farmacovigilância de modo a estar ao corrente de resistências, tal como, de novas opções de tratamento.

No sector veterinário devem ser feitas campanhas de sensibilização direcionadas a agricultores, veterinários e outros profissionais envolvidos na produção animal e proprietários de animais de companhia, de modo a sensibilizar a população ao problema da RAM e a encaminhá-los na direção das boas práticas.

No campo dos bovinos e pequenos ruminantes as medidas a tomar devem incluir uma aplicação de boas práticas e em vez do uso profilático de antimicrobianos desenvolver estratégias de prevenção, como o encolostramento adequado, evitar o tratamento sistemático com antimicrobianos de vacas em período de secagem, estabelecer elevadas medidas de higiene, boas práticas agrícolas e boa gestão, promover o uso de testes de diagnóstico rápido para identificação de microrganismos patogénicos causadores de doença e evitar alimentar vitelos com leite de vacas em tratamento antimicrobiano. Os produtores devem também investir na vacinação dos seus animais (Centro Europeu de Prevenção e Controlo de Doenças & Agência Europeia de Medicamentos, 2015; World Organization for Animal Health, 2016).

4. Método de secagem de vacas leiteira na ilha de São Miguel, Açores

Na ilha de São Miguel o método escolhido para a secagem é, normalmente, o chamado BDCT, o método não seletivo de secagem, em que na maioria das explorações as vacas são secas com o uso de antibiótico intramamário de secagem e, num número mais reduzido de explorações, é utilizado o antibiótico intramamário de secagem seguido do selante interno de teto. É o mesmo método utilizado anteriormente em todos os países europeus, antes da implementação do método seletivo de secagem (SDCT) (Schukken, Vanvliet, Vandegheer, & Grommers, 1993; Schukken, Wilson, Welcome, Garrison-Tikofsky, & Gonzalez, 2003; Scherpenzeel, Tijs, et al., 2016; World Organization for Animal Health, 2016; Vanhoudt et al., 2018). Os produtores ainda demonstram alguma resistência à mudança, sendo que é necessário a implementação de ações de formação e esclarecimento, tanto devido às resistências aos antimicrobianos, como ao que se impõe com o método seletivo de secagem.

5. Programa do leite de vacas felizes

Este programa certificado foi criado pela empresa BEL Portugal (Figura 8). O programa é suportado por cinco pilares: a pastagem, o bem-estar animal, a qualidade e segurança alimentar, a produção sustentável e a eficiência.

Os requisitos impostos aos produtores do programa são:

- As vacas devem estar ao ar livre, exceto em situações de ordenha, alimentação, noite ou más condições climatéricas;
- Em termos da sala de ordenha, esta deve ter superfícies impermeáveis, paredes de fácil lavagem e linha do leite visível;
- A sala de leite deve ser contígua à sala de ordenha, com arejamento suficiente e com capacidade de manutenção do leite a temperatura entre os 3°C a 5°C;
- As manjedouras devem-se encontrar em estábulos com cobertura;
- Deve ser garantida uma boa conservação das forragens em silos, trincheiras ou rolos;
- A exploração deve ser de fácil acesso;
- O transporte do leite deve ser feito em tanques cisternas. O leite refrigerado deve manter-se a uma temperatura de 3°C a 5°C ou, em alternativa, não pode passar 120 minutos entre o início da ordenha e a entrega do leite num posto com refrigeração;
- A zona de saída de leite está interdita à permanência e circulação de animais e deve ser de fácil limpeza;
- Em termos de contraste leiteiro, a média aritmética mensal, com pelo menos duas recolhas de amostras mensais, não pode ser superior a 25.000

microrganismos/mililitro e o teor de células somáticas não pode ser superior a 300.000 células somáticas/mililitro;

- O leite deve estar ausente de substâncias inibidoras, como antibióticos, ausente de conservantes, o limite superior para o teor de aflatoxinas deve ser de 0,025 µg/kg, a acidez do leite deve estar entre os 13° a 17° Dornic e o índice crioscópico nunca deve ser inferior a 516.

O estado sanitário dos produtores Terra Nostra (Figura 9) tem de se encontrar dentro das normas (estado sanitário ok) (Manual de boas práticas “Programa – Leite de Vacas Felizes”, 2015).

Figura 8: Vacas em pastagem. Fotografia gentilmente cedida pelo Professor Doutor George Thomas Stilwell.



Figura 9: Marca de pastagem pertencente ao Programa – Leite de Vacas Felizes. Fotografia gentilmente cedida pelo Professor Doutor George Thomas Stilwell.



IV. Objetivos

O objetivo principal deste estudo foi comprovar que o uso de selante interno na secagem de vacas de leite, quando bem executado e em vacas com contagens celulares baixas, tem uma boa capacidade de proteção da saúde do úbere das mesmas durante o período seco, não favorecendo um aumento de mastites no pós-parto.

Como objetivo secundário, tencionámos comprovar que o uso de selante interno conduz a uma redução importante no uso de antibióticos intramamários de secagem, o que será positivo para o objetivo mundial da redução do uso destes fármacos, ajudando a combater o aumento das resistências aos mesmos.

V. Materiais e Métodos

Neste trabalho foram incluídas vacas de leite de cinco explorações diferentes da ilha de S. Miguel, Açores. Quatro das explorações fazem parte do “Programa – Leite de Vacas Felizes”, sendo que a quinta é uma potencial candidata a entrar no projeto.

Os números de vacas e quartos mamários por exploração participante no estudo são os seguintes:

- Exploração A participou com 16 vacas, num total de 58 quartos mamários
- Exploração B participou com 22 vacas, num total de 84 quartos mamários
- Exploração C participou com 18 vacas, num total de 70 quartos mamários
- Exploração D participou com 4 vacas, num total de 16 quartos mamários
- Exploração E participou com 2 vacas, num total de 7 quartos mamários

Sendo assim, no total, entraram para estudo 62 vacas, num total de 235 quartos mamários.

Para além do constante nas Tabelas 3 e 4, a restante informação referente às explorações e animais pode ser consultada nos Anexos 1 e 2. A Tabela 4 contém dados fornecidos pelos produtores, sendo que duas das explorações tinham o histórico de mastites numa base de dados computadorizada e as restantes faziam os registos em papel. Foi-nos transmitido que poderiam não estar presentes todos os casos de mastite devido a falta de registo.

Tabela 3: Informações detalhadas por exploração.

Exploração	Nº vacas	Sistema	Pernoita	Tipo de secagem	Gradual ou repentina	Raça dos animais	Nº quartos
A	16	Intensivo ao ar livre	Pastagem	BDCT (AB+SEL)	Repentina	Holstein-Frísia	58
B	22	Intensivo ao ar livre	Pastagem *	BDCT (AB)	Repentina	Holstein-Frísia	84
C	18	Intensivo ao ar livre	Pastagem	BDCT (AB)	Repentina	Holstein-Frísia	70
D	4	Intensivo ao ar livre	Pastagem	BDCT (AB)	Repentina	Holstein-Frísia	16
E	2	Intensivo ao ar livre	Pastagem	BDCT (AB+SEL)	Repentina	Holstein-Frísia	7

* Em dias de tempestade, esta exploração tem um espaço coberto com areia para as vacas pernovernarem.

Tabela 4: Incidência aproximada de mastites clínicas por exploração em número de animais e percentagem do efectivo total, durante o período em que decorreu o estudo.

	A	B	C	D	E
Novembro 2017	25 (11%)	10 (7%)	0 (0%)	2 (1%)	1 (1%)
Dezembro 2017	33 (4%)	9 (6%)	2 (2%)	1 (1%)	2 (2%)
Janeiro 2018	24 (5%)	8 (6%)	3 (3%)	2 (1%)	2 (2%)
Fevereiro 2018	19 (13%)	4 (3%)	5 (4%)	0 (0%)	0 (0%)
Março 2018	46 (16%)	7 (5%)	2 (2%)	1 (1%)	2 (2%)
Abril 2018	3 (1%)	9 (6%)	5 (4%)	2 (1%)	0 (0%)
Total de vacas em lactação (valor aproximado)	300	150	120	140	110

Nestas vacas foi efetuada uma recolha de leite de cada um dos quartos mamários para CCS cerca de 3 a 5 dias antes do dia de secagem. Como critérios de inclusão no estudo, as vacas não podiam ter historial recente de mastites clínicas, não podiam estar a ser tratadas para nenhuma afeção (não podiam estar sobre o efeito de antimicrobianos ou anti-inflamatórios) e o TCM era feito no momento da recolha como um critério de pré-seleção: uma vaca com os quartos mamários positivos ao TCM não seguia para recolha, enquanto se o TCM fosse negativo na maioria dos quartos do animal estes seguiam todos para recolha e posterior CCS (Figuras 10 e 11).

Figura 11: Recolha de amostra de leite. Fotografia original.

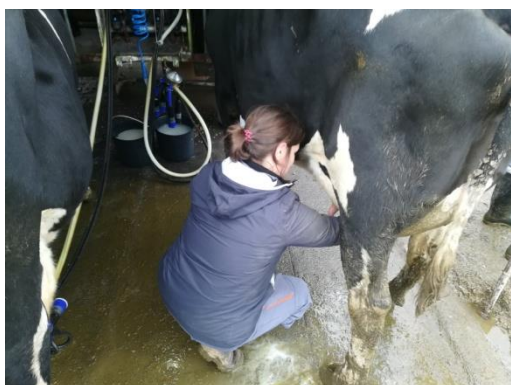


Figura 10: Transporte das amostras de leite. Fotografia original.



De seguida o leite era enviado para laboratório (Sercla, S. Miguel) onde foi efetuada a contagem de células somáticas de cada quarto (Fossomatic™ FC). Após análise dos resultados da CCS a decisão do tipo de tratamento de secagem foi tomada de acordo com os seguintes parâmetros:

- Grupo SEL - quartos mamários com CCS abaixo das 200.000 CS/ml eram secos apenas com a administração de selante interno (OrbeSeal®). n = 205.
- Grupo AB + SEL – quartos mamários com CCS acima das 200.000 CS/ml eram secos com a administração de antibiótico intramamário de secagem (Orbenin® Extra Dry Cow à base de Cloxacilina) (Figura 12) e selante interno (OrbeSeal®) (Figura 13). n = 30.

Figura 12: Antibiótico intramamário de secagem utilizado no estudo – Orbenin Extra®. Fotografia original.



Figura 13: Selante interno utilizado no estudo – OrbeSeal®. Fotografia original.



Aquando do momento da secagem, a administração dos medicamentos foi efetuada pelo médico veterinário da empresa Bel Portugal, Dr. Tiago Viveiros, ou pela autora. O tratamento de secagem foi feito seguindo todos os preceitos de boa práticas, nomeadamente: operador

usava sempre luvas de látex, procedia-se à limpeza prévia dos tetos, desinfecção individual dos mesmos e posterior administração do(s) produto(s) (Figura 14).

Figura 14: Limpeza do úbere pré secagem. Fotografia original.



O período de secagem das vacas participantes neste estudo durou entre os 50 e os 70 dias. Entre os 10 e 15 dias após o parto, foi feita nova colheita de leite de cada quarto mamário para CCS que foi efectuada no mesmo laboratório (Sercla, S. Miguel).

As CCS pré e pós-parto foram inseridas numa base de dados delineada no Microsoft Office Excel 2007 (Anexo 1) com posterior análise das alterações ocorridas de um período para o outro. A base de dados foi construída com uma série de variáveis: exploração (de A a E), identificação da vaca, identificação do quarto mamário (anterior esquerdo AE, anterior direito AD, posterior esquerdo PE, posterior direito PD), momento (pré-parto e pós-parto), grupo tratamento (AB + SEL ou SEL) e por último, a variável CCS. Quartos mamários secos ou indeterminados (sem leitura de CCS) pré ou pós-parto foram eliminados. Foram também retirados alguns *outliers* com contagens pouco credíveis, como por exemplo de 26.311.000 CS/ml, cuja causa pode ter sido por erro do operador na altura da secagem (contaminação na administração do selante) ou por erro de leitura da máquina. Foi também elaborada uma tabela com o registo da idade das vacas em estudo e com a penúltima e a última contagem de leite de tanque destes mesmos animais (Anexo 2).

Não houve o aparecimento de casos de mastites clínicas durante o período de secagem ou o pós-parto imediato.

Análise Estatística

A análise estatística foi feita no programa R com a utilização da extensão do R Commander. Foi calculada a normalidade da amostra, com o teste de Shapiro-Wilk, sendo que este faz a correlação entre os dados deste estudo com os valores normais padronizados. Calculou-se também, a média, a mediana, os extremos e os quartis da amostra em pré e pós-parto, foi feita

uma ANOVA entre explorações e por último foi utilizado o *independent samples t-test*, para cálculo da diferença do logaritmo de 10 de CCS ($\log_{10}(\text{CCS})$) em relação ao parâmetro grupo, face ao momento. Durante a análise estatística foi criada uma coluna de $\log_{10}(\text{CCS})$ para melhor percepção dos gráficos. Foi também calculada a percentagem da taxa de cura e taxa de infeção.

Quando os valores apresentados de p são menores do que 0,05 significa que as diferenças são estatisticamente significativas.

VI. Resultados

Comparação das CCS quanto ao momento da colheita

Na Tabela 5, encontra-se o sumário dos valores da contagem de células somáticas em função do momento, pré e pós-parto. São considerados os parâmetros do valor mínimo e máximo (extremos), mediana, média e quartis. Foram retirados oito *outliers* com contagens acima das 700.000 CS/ml, cujos valores eram pouco credíveis para pós-partos sem complicações e que serão provavelmente devido a erros não relacionados com o animal ou com o próprio selante interno, sendo que, como dito anteriormente esses valores foram associados a possíveis erros do operador na altura da secagem (contaminação na administração do selante) ou erros de contagem/calibração da própria máquina.

Tabela 5: Valores da CCS (células somáticas por mililitro, CS/ml), em função do momento da colheita do leite.

	Mínimo (CS/ml)	1º Quartil (CS/ml)	Mediana (CS/ml)	Média (CS/ml)	3º Quartil (CS/ml)	Máximo (CS/ml)
Pré-Parto	1.000	22.500	47.000	69.740	97.500	416.000
Pós-Parto	1.000	9.000	20.000	54.179	42.500	661.000

Apesar de um máximo maior no pós-parto, em geral há uma diminuição da CCS do pré para o pós-parto, como se pode evidenciar na média que diminuiu de 69.740 CS/ml para 54.179 CS/ml e até pelos restantes valores de quartis e mediana.

Teste de normalidade

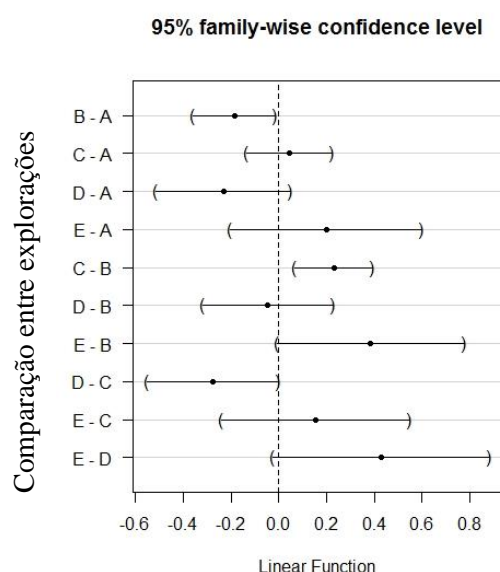
No resultado ao teste de Shapiro-Wilk verificou-se que a distribuição da amostra é normal ($p = 0,202$).

Comparação CCS entre explorações

No Gráfico 1 demonstram-se as diferenças das médias consoante a exploração. Sendo que o n varia muito entre explorações, havendo explorações que participaram com 22 vacas e 84 quartos mamários e explorações com apenas 2 vacas e 7 quartos mamários no total, não será muito correcto levar em conta estes resultados.

Mesmo assim em n mais equiparáveis, como as explorações A, B e C, consegue-se aferir alguma diferença entre a B e a A e entre a C e a B.

Gráfico 1: Resultado do Teste ANOVA comparando médias de CCS entre explorações.



Diferença do logaritmo de 10 de CCS quanto ao grupo

Seguindo a normalidade da amostra, fez-se o *independent samples t-test* em pré e pós-parto, tendo em conta o log10 de CCS e o grupo, com a finalidade de perceber a diferença entre os dois grupos nos dois momentos. Os valores obtidos pelo t-test no pré-parto foram estatisticamente significativos e demonstraram que o log10(CCS) neste momento é maior no grupo AB + SEL do que no grupo do SEL (Tabela 6). As diferenças obtidas no t-test para os valores de CCS no pós-parto não foram significativas (Tabela 7).

Tabela 6: *Independent samples t-test* entre o logaritmo de 10 da CCS e o grupo no pré-parto.

	Log10(CCS)	$p < 2,2e^{-16}$
AB + SEL	5,276204	
SEL	4,554714	

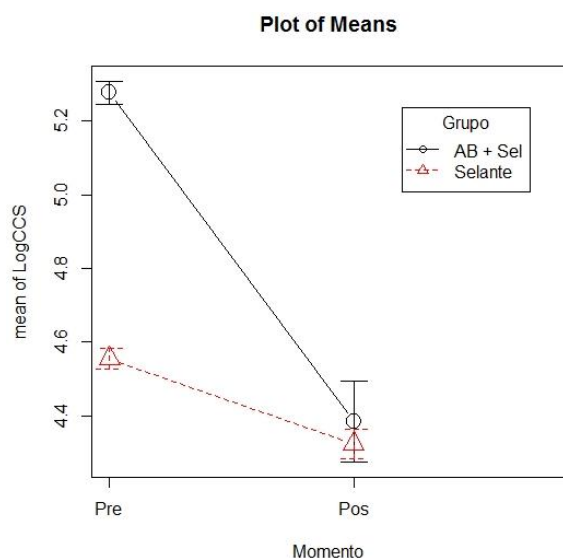
Tabela 7: *Independent samples t-test* do logaritmo 10 da CCS consoante o grupo no pós-parto.

	Log10(CCS)	p= 0,5995
AB + SEL	4,384903	
SEL	4,322995	

Diminuição da média do log10(CCS) em função do momento

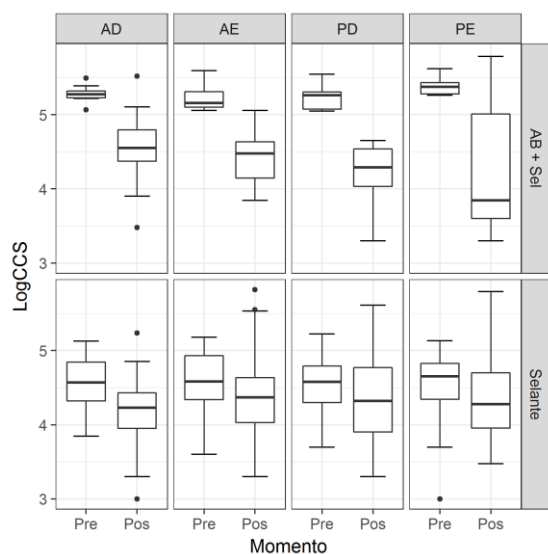
No Gráfico 2 ilustra-se a diminuição do log10(CCS) do pré-parto para o pós-parto, consoante o grupo. Através deste gráfico demonstra-se que os valores no pré-parto eram muito distintos entre o grupo AB + SEL e o grupo SEL, e que os valores em pós-parto se sobrepueram.

Gráfico 2: Diminuição da média do log10(CCS) do pré-parto para o pós-parto, face ao tipo de tratamento.



No Gráfico 3 avalia-se o log10(CCS) em função do momento, face ao diferente grupo, relativamente a cada teto individualmente. Pode-se verificar que em geral tanto num grupo como no outro a CCS mostrou uma diminuição da recolha pré-parto para a recolha pós-parto em todos os quartos.

Gráfico 3: Variações nas CCS entre pré e pós-parto considerando os quartos individualmente.



Taxas de cura e de infecção

Resultados do Grupo SEL para quartos mamários que fizeram infecção no pós-parto imediato e para quartos mamários que mantiveram valores abaixo de 200.000 CS/ml, respectivamente.

$$\frac{13}{205} = 0,063 = 6,3\%$$

Taxa de infecção

$$\frac{192}{205} = 0,937 = 93,7\%$$

Quartos que mantiveram os valores

Resultados do Grupo AB + SEL para quartos mamários que fizeram cura durante o período seco e para quartos mamários que mantiveram a infecção (valores acima das 200.000 CS/ml), respectivamente.

$$\frac{28}{30} = 0,933 = 93,3\%$$

Taxa de cura

$$\frac{2}{30} = 0,067 = 6,7\%$$

Quartos em que a infecção persistiu

Correlação entre a idade e a CCS

Para verificarmos a existência de relação entre a idade dos animais e a sua contagem de células somáticas foi feito um teste de correlação, sendo o escolhido o teste de Spearman. Este foi estatisticamente significativo ($p = 0,00001012$) e o valor de ρ (rho) foi igual a 0,2835612 ($\rho = 0,2835612$), significando que existe uma relação fraca entre as duas variáveis.

Vertente económica

Analisando a vertente económica verificaram-se algumas poupanças por se ter optado pela secagem selectiva.

Em relação a gastos com as contagens de células somáticas, nos Açores estes custos não existem, sendo que os produtores têm essas contagens suportadas pelo Estado.

Então, assim sendo, os únicos custos no momento da secagem são com o tratamento escolhido. Sendo que o preço de uma caixa de 24 seringas de Orbenin® Extra DC é 42,37€ e o preço de uma caixa de 24 seringas de OrbeSeal® é 44,16€, pode concluir-se que para secagem não seletiva de cada quarto mamário se gastaria, aproximadamente, 3,61€ (1,77€ do Orbenin® + 1,84€ do OrbeSeal®) por quarto mamário, o que dá um total de 14,44€ por vaca. No entanto, se se fizer secagem seletiva e a vaca apresentar os quartos mamários com contagens celulares baixas, neste caso gastar-se-ia apenas 1,84€ por quarto mamário e 7,36€ por vaca.

Se considerarmos a amostragem deste estudo, uma exploração com 62 vacas e 235 quartos mamários para secagem, então uma secagem não seletiva neste panorama resultava num custo de 848,35€ para secar os 235 quartos mamários. Com a secagem seletiva apresentada no estudo gastar-se-ia 485,50€ para secar os 235 quartos mamários (108,30€ Orbenin® + 377,20€ OrbeSeal®), observando-se então uma poupança de 362,85€ no total.

Considerando-se o exemplo da vaca 8649 (Anexo 1), que mesmo com três quartos mamários a serem secos com AB + SEL, se conseguiu poupar na secagem desta vaca 1,77€ ou, no exemplo da vaca 1063, que se poupou 5,31€, na secagem dos quatro quartos mamários, mesmo com um quarto mamário a ser seco com AB + SEL.

Em termos de explorações, se considerarmos o exemplo da exploração A, com secagem não seletiva esta exploração gastaria 209,38€ (58 quartos mamários a 3,61€) e, com a secagem seletiva utilizada neste estudo, esta exploração gastou 124,42€, resultando numa poupança de 84,96€.

Na exploração B, com secagem não seletiva esta exploração gastaria 303,24€ (84 quartos mamários a 3,61€) e, com a secagem seletiva utilizada neste estudo, esta exploração gastou 161,64€, resultando numa poupança de 141,60€.

Na exploração C, com secagem não seletiva esta exploração gastaria 252,70€ (70 quartos mamários a 3,61€) e, com a secagem seletiva utilizada neste estudo, esta exploração gastou 151,81€, resultando numa poupança de 100,89€.

Em relação às explorações D e E a amostra recolhida é muito pequena para se extrapolar para a exploração em geral, mas em termos de vacas, a exploração D, com secagem não seletiva gastaria 57,76€ (16 quartos mamários a 3,61€) nas 4 vacas e, com a secagem seletiva utilizada

neste estudo, gastou 34,75€, resultando numa poupança de 23,01€ nas secagem das 4 vacas e a exploração E, com secagem não seletiva gastaria 25,27€ (7 quartos mamários a 3,61€) nas 2 vacas e, com a secagem seletiva utilizada neste estudo, gastou 12,88€, resultando numa poupança de 12,39€ na secagem das 2 vacas.

VII. Discussão

Tal como o descrito ao longo do trabalho, o método escolhido para a secagem é um fator muito importante para a manutenção da saúde da glândula mamária durante o período seco e mesmo no pós-parto. Um método de secagem adaptado à situação e eficaz garantirá um úbere saudável no pós-parto. Como escolher o tratamento para cada quarto a secar é um dos primeiros impasses (Dingwell et al., 2003; Scherpenzeel, den Uijl, et al., 2016). A finalidade é perceber se o úbere está ou não saudável (presença ou não de infeção) e, sendo que algumas vezes este apresenta mastite subclínica nalguns dos quartos, só se poderá tomar decisões com base em meios laboratoriais. Como foi apresentado neste trabalho, a CCS é um dos métodos utilizados para aferir a saúde do úbere, com o patamar das 200.000 CS/ml como a divisão entre o considerado saudável e não saudável, sendo que este método nos apresenta a contagem de células de descamação e de leucócitos e o aumento destes últimos como reação à infeção trará uma aumento da CCS dando-nos então a perceção da saúde do úbere. Mas para além deste método existem outros, como é o exemplo do diagnóstico bacteriológico que demonstra a presença ou não de microrganismos e no caso positivo qual a bactéria responsável. O TCM é um teste que por si só não devia suportar a decisão para um método de secagem, mas é sem dúvida um bom apoio para os outros testes. Só após a leitura dos resultados destes testes deverá ser tomada a decisão quanto ao tipo de secagem (Cameron et al., 2015; Kiesner et al., 2016; Scherpenzeel, den Uijl, et al., 2016; Vanhoudt et al., 2018).

Com o aumento das resistências aos antimicrobianos nos últimos anos, a necessidade da implementação de um método de secagem seletivo é essencial. Sendo assim, a secagem não seletiva é o método de secagem em que não há pré seleção das vacas a serem secas, sendo que, todas elas são secas da mesma maneira, com o recurso a antimicrobianos ou a antimicrobianos mais o selante interno. Este era o método escolhido no passado e ainda o é em muitas explorações e países. O método de secagem seletiva baseia-se numa seleção das vacas a serem secas com base nos teste já referidos e posterior secagem conforme os resultados. A eficácia do selante interno ainda continua a ser testada pois muitos produtores ainda desconfiam do seu valor e têm medo de secar as vacas sem a utilização de antimicrobianos. Um dos objetivos deste estudo é exactamente demonstrar aos produtores dos Açores de que este é um método seguro, confiável e económico (Woolford et al., 1998; Berry & Hillerton, 2002).

Como feito neste estudo e também já concluído por outros, a CCS é uma opção para quem quer enveredar por uma secagem seletiva e mostrou-se eficiente, sendo que no caso do presente estudo era também acrescentada a TCM previamente à recolha e esta mesma recolha

era feita aos quartos individualmente, enquanto na maioria dos estudos citados a recolha era feita ao animal (os quatro quartos juntos) (Schukken et al., 2003; Bradley et al., 2010).

Com o aumento da RAM é cada vez mais necessária uma tomada de consciência face ao abuso de antimicrobianos e essa mudança na secagem das vacas pode ser um começo nessa consciencialização. Com a criação dos já falados planos de ação contra a RAM são vários os países que já começaram a implementar uma secagem seletiva nas suas explorações, sendo que até agora as reações são positivas (Vanhoudt et al., 2018). Esta preocupação precisa de começar a existir também em Portugal, sendo que para além dos dados globais apresentados ao longo do trabalho, existem também já outros estudos portugueses descrevendo o aumento de resistências dos agentes de mastites aos antimicrobianos (Rato et al., 2013; Seixas et al., 2014).

No teste ANOVA feito para comparação entre explorações (Gráfico 1), consegue-se aferir alguma diferença entre a B e a A e entre a C e a B, sendo que estas diferenças podem dever-se ao manejo das vacas secas de cada exploração, ao manejo/assistência ao parto e pós-parto, à existência ou não de infeções ativas na exploração, entre outras razões.

Os valores de $\log_{10}(\text{CCS})$ dos dois grupos nos pré-parto apresentados na Tabela 6, eram expectáveis, já que os critérios de seleção foram exatamente valores acima das 200.000 CS/ml para secagem com o grupo AB + SEL e valores abaixo de 200.000 CS/ml para secagem com o grupo SEL. Em relação aos valores de $\log_{10}(\text{CCS})$ dos dois grupos no pós-parto, apesar de o teste não ser estatisticamente significativo, podemos confirmar que em ambos os grupos o número de células somáticas diminuíram do pré-parto para o pós-parto.

Tal como o descrito já por vários autores, entre eles Berry e Hillerton (2002), Mütze et al. (2012), Krömker et al. (2013), entre outros já apresentados, demonstrámos com o nosso estudo que o uso de selante interno forma uma eficaz barreira ao desenvolvimento de novas infeções no período seco. Isto foi provado no presente estudo, com uma diminuição do $\log_{10}(\text{CCS})$ do pré-parto (4,554714) para pós-parto (4,322995), o que significa que na sua grande maioria as CCS destes quartos ou se mantiveram ou diminuíram em pós-parto (Anexo 1) e, também, pela ausência de casos de mastites clínicas durante o período de secagem e no pós-parto imediato. É expectável a manutenção dos valores de CCS do pré para o pós-parto, sendo que o importante é que o uso de selante impeça o aparecimento de novas infeções no período seco. Esta diminuição do valor indica que provavelmente ocorreu uma renovação do epitélio da glândula após uma fase de muita espoliação (fim de lactação) ou até mesmo, para a resolução de infeções já existentes pelo sistema imunitário do próprio animal.

Face ao grupo do antibiótico mais selante interno, uma redução proporcionalmente maior neste grupo é natural, pois estas vacas tinham uma CCS inicial elevada e sendo o antibiótico destinado a inibir ou eliminar microrganismos patogénicos presentes, é natural que sendo eficaz as CCS diminuam muito no pós-parto. Esta eficácia na redução da infeção por parte do AB ficou então mais uma vez provada, sendo que houve uma grande diminuição do $\log_{10}(\text{CCS})$ de 5,276204 em pré-parto para 4,384903 no pós-parto e também a eliminação de sinais de infeção (Mütze et al., 2012; Cameron et al., 2015).

Comparando os dois grupos percebe-se uma clara eficácia de ambos quando utilizados de acordo com os parâmetros de secagem estabelecidos e conforme o esperado, sendo que no grupo AB + SEL, o uso de AB foi eficaz e conduziu a uma redução maior de microrganismos presente, mas que o uso de apenas selante interno também se mostrou eficaz como barreira de defesa ao aparecimento de novas infeções (como apresentado na Gráfico 2 e 3).

O presente estudo teria beneficiado de um grupo controlo que, independentemente das contagens celulares, não seria tratado, podendo então retirar-se conclusões sobre como seria a variação da CCS de pré para pós-parto neste grupo comparativamente aos restantes.

No presente estudo, nos quartos do grupo SEL, secos apenas com recurso ao selante interno, houve um aparecimento de 13 novos casos de IIM em pós-parto imediato, num total de 205 animais tratados neste grupo. Sendo assim, houve uma taxa de infeção de 6,3% no período seco ou peri-parto, em animais com contagens inferiores a 200.000 CS/ml na altura da secagem. Pode então dizer-se que 93,7% dos quartos secos neste grupo, manteve-se sem infeção em pós-parto, com CCS inferior a 200.000 CS/ml.

Face aos quartos do grupo AB + SEL, secos com recurso ao AB intramamário de secagem e selante interno, houve a eliminação da infeção durante o período seco em 28 quartos dos 30 sujeitos a esse tratamento. Estes valores resultam numa taxa de cura de 93,3%. Por outro lado, 6,7% dos quartos a infeção persistiu em pós-parto (2 quartos de 30 mantiveram a CCS superior a 200.000 CS/ml).

Como já referido existem autores, como é o caso de Reichmuth (1975) citado por Sharma et al. (2011), que apontam a idade do animal como um fator que influencia a CCS. As vacas utilizadas neste estudo encontravam-se entre os dois e os nove anos, mas era maior a percentagem até aos quatro anos, do que acima destes. Sendo assim, no presente estudo encontrou-se uma correlação significativa, se bem que fraca, entre as duas variáveis. Deste valor não pode ser aferida grande conclusão, visto que não é muito grande a amostragem de

vacas mais velhas, não podendo concluir-se grandes variações entre estas e as vacas mais novas.

Quanto à vertente económica, como se verificou nos resultados, numa vaca saudável dos quatro quartos (contagens abaixo das 200.000 CS/ml), em que numa secagem não seletiva se utilizaria AB + SEL, quando passamos uma secagem seletiva dos animais, neste caso seria possível uma poupança de cerca de 50% na secagem da vaca. Explorações com secagens não seletivas apenas com o recurso ao AB seriam mais lucrativas no momento da secagem, mas cada vez mais se tem comprovado a validade do recurso também ao selante interno, pela sua capacidade de selar logo o teto e dar tempo a este para formar o seu tampão de queratina natural e principalmente, pela emergente redução no recurso ao uso dos AB, devido ao já falado e tão importante aumento de resistências, sendo que uma secagem aparentemente mais barata no momento pode resultar numa situação mais cara e com grandes dificuldades de resolução a longo prazo.

O maneio e a higiene na ordenha devem ser duas das grandes preocupações das explorações, sendo que é com a prevenção que se consegue combater a maior parte das situações existentes em explorações leiteiras, sendo a mastite uma das principais. Entre os possíveis cuidados pode realçar-se a limpeza e desinfeção do equipamento após utilização, a mudança periódica de tetinas, os panos de limpeza individuais, o uso de luvas por parte do operador e a utilização correta dos produtos de *dipping*. Sessões de esclarecimento e consciencialização para o assunto serão provavelmente a melhor via para a mudança (Constable et al., 2017).

Face à secagem da vaca e principalmente na utilização do selante interno, as regras de utilização e de higiene são ainda mais importantes, sendo que se deve tentar garantir o máximo de assepsia possível nestes casos. Certos erros neste processo podem ser apontados como causa do aparecimento de *outliers*, que são independentes à eficácia do selante, mas podem ser devido a falhas na sua utilização (Woolford et al., 1998; Berry & Hillerton, 2002). Para a implementação do método seletivo de secagem em vacarias em São Miguel e, sendo que a grande maioria destas não tem veterinário residente, são recomendadas formações para esclarecimento nos benefícios da utilização deste método e mais ainda formações para a posterior implementação do mesmo.

Teria sido interessante durante a execução deste projeto a elaboração dum questionário aos produtores sobre a possível mudança para um método seletivo de secagem, quais os seus maiores impasses/medos, tentar perceber o quanto estão esclarecidos ou não face às

resistências aos antimicrobianos e o que se pode fazer para que aceitem e implementem a mudança.

VIII. Conclusão

De acordo com os resultados obtidos é possível concluir que o uso de selante interno num método de secagem seletiva em vacas com contagens celulares abaixo das 200.000 CS/ml é eficaz para manutenção da saúde do úbere durante o período seco e como barreira física a novas infeções durante o mesmo. Com a utilização de apenas o selante através do método de secagem seletiva, será atingido também o objectivo de uma redução importante no uso de antimicrobianos (mais concretamente do grupo dos antibióticos) e uma poupança significativa nos custos de produção.

IX. Bibliografia

- Barlow, J. (2011). Mastitis therapy and antimicrobial susceptibility: A multispecies review with a focus on antibiotic treatment of mastitis in dairy cattle. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, 16(4), 383–407. <https://doi.org/10.1007/s10911-011-9235-z>
- Berry, E. A., & Hillerton, J. E. (2002). The Effect of an Intramammary Teat Seal on New Intramammary Infections. *Journal of Dairy Science*, 85(10), 2512–2520. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(02\)74334-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74334-8)
- Bradley, A. J., Breen, J. E., Payne, B., Williams, P., & Green, M. J. (2010). The use of a cephalonium containing dry cow therapy and an internal teat sealant, both alone and in combination. *Journal of Dairy Science*, 93(4), 1566–1577. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2725>
- Cameron, M., Keefe, G. P., Roy, J.-P., Stryhn, H., Dohoo, I. R., & McKenna, S. L. (2015). Evaluation of selective dry cow treatment following on-farm culture: Milk yield and somatic cell count in the subsequent lactation. *Journal of Dairy Science*, 98(4), 2427–2436. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8876>
- Centro Europeu de Prevenção e Controlo de Doenças & Agência Europeia de Medicamentos. (2015). Orientações para utilização prudente de agentes antimicrobianos na medicina veterinária. *Jornal Oficial Da União Europeia*, 7–26. Retrieved from http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Report/2009/11/WC500008770.pdf
- Constable, P. D., Hinchcliff, K. W., Done, S. H., & Grünberg, W. (2017). *VETERINARY MEDICINE: A Textbook of the Diseases of Cattle, Horses, Sheep, Pigs, and Goats* (11th ed.). St. Louis, Missouri: Elsevier.
- Dingwell, R. T., Kelton, D. F., & Leslie, K. E. (2003). Management of the dry cow in control of peripartum disease and mastitis. *Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice*, 19(1), 235–265. [https://doi.org/10.1016/S0749-0720\(02\)00072-5](https://doi.org/10.1016/S0749-0720(02)00072-5)
- Duarte, C. M., Freitas, P. P., & Bexiga, R. (2015). Technological advances in bovine mastitis diagnosis: an overview. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 27(6), 665–672. <https://doi.org/10.1177/1040638715603087>
- Ekman, T., & Østerås, O. (2003). Mastitis Control and Dry Cow Therapy in the Nordic Countries. *National Mastitis Council Annual Meeting Proceedings*, 18–30. Retrieved from https://www.researchgate.net/publication/238676932_MASTITIS_CONTROL_AND_DRY_COW_THERAPY_IN_THE_NORDIC_COUNTRIES?enrichId=rgreq-

- 228f9bbcfdae452535600ea251a45ad6-
 XXX&enrichSource=Y292ZXJQYWdlOzIzODY3NjkzMjUzODM4Nzc4NjE
 xOTRAMTQwMTc3NzY1NTkxNw%3D%3D&el=1_x_2&_esc=publicationCoverPdf
- European Centre for Disease Prevention and Control. (2012). *Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2011. Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net)*. <https://doi.org/10.2900/6551>
- European Centre for Disease Prevention and Control. (2015). *European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2014. Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net)*. Stockholm: ECDC; 2015. Reproduction. <https://doi.org/10.2900/93403>
- European Centre for Disease Prevention and Control. (2017a). *Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2015. Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net)*. European Centre for Disease Prevention and Control. <https://doi.org/10.2900/39777>
- European Centre for Disease Prevention and Control. (2017b). *Surveillance of antimicrobial resistance in Europe 2016. Annual report of the European Antimicrobial REsistance Surveillance Network (EARS-Net)*. <https://doi.org/10.2900/296939>
- European Commission. (2001). Communication from the Commission on a community strategy against antimicrobial resistance. *COM(2001) 333 Final, I*. Retrieved from <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/en/ALL/?uri=CELEX:52001DC0333>
- European Commission. (2015). AMR: A major European and Global challenge. *Factsheet, 2014, 2*. Retrieved from http://ec.europa.eu/dgs/health_food-safety/docs/amr_factsheet.pdf
- European Commission. (2016a). Action plan against the rising threats from antimicrobial resistance, 17. [https://doi.org/10.1016/S0022-3913\(12\)00047-9](https://doi.org/10.1016/S0022-3913(12)00047-9)
- European Commission. (2016b). Evaluation of the Action Plan against the rising threats from antimicrobial resistance. Retrieved from http://ec.europa.eu/health/amr/sites/amr/files/amr_evaluation_2011-16_evaluation-action-plan.pdf
- European Commission. (2017). A European One Health Action Plan against Antimicrobial Resistance (AMR). *European Commission*, 24. Retrieved from https://ec.europa.eu/health/amr/sites/amr/files/amr_action_plan_2017_en.pdf
- Green, M. J., Bradley, A. J., Medley, G. F., & Browne, W. J. (2007). Cow, Farm, and Management Factors During the Dry Period that Determine the Rate of Clinical Mastitis After Calving. *Journal of Dairy Science*, 90(8), 3764–3776.

<https://doi.org/10.3168/jds.2007-0107>

Green, M. J., Green, L. E., Medley, G. F., Schukken, Y. H., & Bradley, A. J. (2002).

Influence of Dry Period Bacterial Intramammary Infection on Clinical Mastitis in Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 85(10), 2589–2599. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(02\)74343-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74343-9)

Harmon, R. J. (1994). Physiology of Mastitis and Factors Affecting Somatic Cell Counts.

Journal of Dairy Science, 77(7), 2103–2112. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(94\)77153-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(94)77153-8)

IDF, & FAO. (2013). *Guia de boas práticas na pecuária de leite. Produção e Saúde Animal Diretrizes, Roma.*

Kiesner, K., Wente, N., Volling, O., & Krömker, V. (2016). Selection of cows for treatment at dry-off on organic dairy farms. *Journal of Dairy Research*, 83(4), 468–475.

<https://doi.org/10.1017/S0022029916000662>

Krömker, V., Grabowski, N. T., & Friedrich, J. (2014). New infection rate of bovine mammary glands after application of an internal teat seal at dry-off. *Journal of Dairy Research*, 81(1), 54–58. <https://doi.org/10.1017/S0022029913000599>

Mütze, K., Wolter, W., Failing, K., Kloppert, B., Bernhardt, H., & Zschöck, M. (2012). The effect of dry cow antibiotic with and without an internal teat sealant on udder health during the first 100 d of lactation: A field study with matched pairs. *Journal of Dairy Research*, 79(4), 477–484. <https://doi.org/10.1017/S0022029912000477>

National Mastitis Council. (2009). Recommended mastitis control program, 1–2. Retrieved from <https://www.nmconline.org/docs/NMCchecklistInt.pdf>

Oliveira, L., & Ruegg, P. L. (2014). Treatments of clinical mastitis occurring in cows on 51 large dairy herds in Wisconsin. *Journal of Dairy Science*, 97(9), 5426–5436.

<https://doi.org/10.3168/jds.2013-7756>

Østerås, O., & Sølverød, L. (2009). Norwegian mastitis control programme. *Irish Veterinary Journal*, 62(Suppl 4), S26–S33. <https://doi.org/10.1186/2046-0481-62-S4-S26>

Paulrud, C. O. (2005). Basic concepts of the bovine teat canal. *Veterinary Research Communications*, 29(3), 215–245.

<https://doi.org/10.1023/B:VERC.0000047496.47571.41>

Pyörälä, S. (2009). Treatment of mastitis during lactation. *Irish Veterinary Journal*, 62(4), 40–44. <https://doi.org/10.1186/2046-0481-62-S4-S40>

Rato, G., Bexiga, R., Florindo, C., Cavaco, L. M., & Vilela, C. L. (2013). Antimicrobial resistance and molecular epidemiology of streptococci from bovine mastitis, 161, 286–294. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2012.07.043>

- Santman-Berends, I. M. G. A., Swinkels, J. M., Lam, T. J. G. M., Keurentjes, J., & van Schaik, G. (2016). Evaluation of udder health parameters and risk factors for clinical mastitis in Dutch dairy herds in the context of a restricted antimicrobial usage policy. *Journal of Dairy Science*, 99(4), 2930–2939. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10398>
- Scherpenzeel, C. G. M., den Uijl, I. E. M., van Schaik, G., Riekerink, R. G. M. O., Hogeveen, H., & Lam, T. J. G. M. (2016). Effect of different scenarios for selective dry-cow therapy on udder health, antimicrobial usage, and economics. *Journal of Dairy Science*, 99(5), 3753–3764. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9963>
- Scherpenzeel, C. G. M., Tijs, S. H. W., den Uijl, I. E. M., Santman-Berends, I. M. G. A., Velthuis, A. G. J., & Lam, T. J. G. M. (2016). Farmers' attitude toward the introduction of selective dry cow therapy. *Journal of Dairy Science*, 99(10), 8259–8266. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11349>
- Schukken, Y. H., Vanvliet, J., Vandegeer, D., & Grommers, F. J. (1993). A Randomized Blind Trial on Dry Cow Antibiotic Infusion in a Low Somatic Cell Count Herd. *Journal of Dairy Science*, 76(10), 2925–2930. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(93\)77632-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(93)77632-8)
- Schukken, Y. H., Wilson, D. J., Welcome, F., Garrison-Tikofsky, L., & Gonzalez, R. N. (2003). Monitoring udder health and milk quality using somatic cell counts. *Veterinary Research*, 34(5), 579–596. <https://doi.org/https://doi.org/10.1051/vetres:2003028>
- Seixas, R., Santos, J. P., Bexiga, R., Vilela, C. L., & Oliveira, M. (2014). Short communication : Antimicrobial resistance and virulence characterization of methicillin-resistant staphylococci isolates from bovine mastitis cases in Portugal. *Journal of Dairy Science*, 97(1), 340–344. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7130>
- Sharma, N., Singh, N. K., & Bhadwal, M. S. (2011). Relationship of Somatic Cell Count and Mastitis: An Overview. *Asian-Australian Journal Animal Science*, 24(3), 429–438. <https://doi.org/10.5713/ajas.2011.10233>
- Vanhoudt, A., van Hees-Huijps, K., van Kneegsel, A. T. M., Sampimon, O. C., Vernooij, J. C. M., Nielen, M., & van Werven, T. (2018). Effects of reduced intramammary antimicrobial use during the dry period on udder health in Dutch dairy herds. *Journal of Dairy Science*, 101(4), 1–13. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13555>
- Whist, A. C., Østerås, O., & Sølverød, L. (2006). Clinical Mastitis in Norwegian Herds After a Combined Selective Dry-Cow Therapy and Teat-Dipping Trial. *Journal of Dairy Science*, 89(12), 4649–4659. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72515-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72515-2)
- Williamson, J. H., Woolford, M. W., & Day, A. M. (1995). The prophylactic effect of a dry-cow antibiotic against *Streptococcus uberis*. *New Zealand Veterinary Journal*, 43(6),

228–234. <https://doi.org/10.1080/00480169.1995.35898>

Woolford, M. W., Williamson, J. H., Day, A. M., & Copeman, P. J. A. (1998). The prophylactic effect of a teat sealer on bovine mastitis during the dry period and the following lactation. *New Zealand Veterinary Journal*, 46(1), 12–19.

<https://doi.org/10.1080/00480169.1998.36044>

World Health Organization. (2015a). Global action plan on antimicrobial resistance. *WHO Press*, 1–28. [https://doi.org/ISBN 978 92 4 150976 3](https://doi.org/ISBN%20978%2092%204%20150976%203)

World Health Organization. (2015b). Global Antimicrobial Resistance Surveillance System. Manual for Early Implementation. *Who*, 1–44. Retrieved from http://www.who.int/drugresistance/en/%5Cnwww.who.int/about/licensing/copyright_form/en/index.%5Cnhttp://apps.who.int/iris/bitstream/10665/188783/1/9789241549400_eng.pdf?ua=1

World Health Organization. (2015c). Worldwide country situation analysis: response to antimicrobial resistance. *WHO Press*, (April), 1–50. [https://doi.org/ISBN: 978 92 4 156494 6](https://doi.org/ISBN:9789241564946)

World Organization for Animal Health. (2016). The OIE Strategy on Antimicrobial Resistance and the Prudent Use of Antimicrobials. *World Organization for Animal Health*, (November), 1–61. Retrieved from http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Media_Center/docs/pdf/PortailAMR/EN_OIE-AMRstrategy.pdf%0Ahttp://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Media_Center/docs/pdf/PortailAMR/EN_OIE-AMRstrategy.pdf%0Awww.oie.int/antimicrobial-resistance

X. Anexos

Anexo 1: Tabela de dados para análise.

Explo ração	Vaca	Anterior Esquerdo AE		Anterior Direito AD		Posterior Esquerdo PE		Posterior Direito PD	
		Pré- parto	Pós- parto	Pré- parto	Pós- parto	Pré- parto	Pós- parto	Pré- parto	Pós- parto
A	8649	150.00 0	29.00 0	311.00 0	8.000	466.00 0	4.000	351.00 0	2.000
A	6357	139.00 0	206.0 00	62.000	71.000	183.00 0*	608.000	140.00 0	7.000
A	9015	36.000	31.00 0	20.000	53.000	77.000	21.000	56.000	247.000
A	1751	85.000	15.00 0	118.00 0	15.000	127.00 0	11.000	194.00 0*	45.000
A	5352	12.000	15.00 0	14.000	30.000	16.000	12.000	166.00 0	8.000
A	6152	30.000	4.000	79.000	2.000	270.00 0	7.000		
A	9453	62.000	68.00 0	108.00 0	1.000	49.000	3.000	44.000	2.000
A	9306	88.000	13.00 0	83.000	15.000	126.00 0	12.000	173.00 0*	13.000
A	5617	124.00 0	42.00 0	132.00 0	37.000	102.00 0	80.000	42.000	226.000
A	6182	103.00 0	18.00 0	31.000	13.000	24.000	14.000		
A	9317			165.00 0*	127.000	32.000	42.000		
A	4660	144.00 0*	7.000	23.000	21.000	22.000	4.000	68.000	15.000
A	9443	30.000	2.000	21.000	6.000	55.000	10.000	34.000	410.000
A	7689	21.000	8.000	14.000	21.000	17.000	180.000		
A	9022	30.000	26.00 0			83.000	189.000	22.000	19.000
A	0002	363.00 0	11.00 0	18.000	17.000	48.000	29.000	62.000	153.000
B	975	36.000	153.0 00	80.000	18.000	55.000	24.000	58.000	18.000
B	1100	44.000	22.00 0	50.000	17.000	38.000	8.000	43.000	17.000
B	1110	118.00 0	46.00 0	40.000	40.000	64.000	64.000	25.000	43.000
B	914	106.00 0	34.00 0	114.00 0	10.000	45.000	19.000	47.000	17.000
B	1063	147.00 0	52.00 0	185.00 0*	35.000	135.00 0	172.000	167.00 0	33.000
B	903	24.000	28.00 0	53.000	10.000	9.000	15.000	9.000	16.000
B	1055	15.000	13.00 0	20.000	27.000	37.000	27.000	153.00 0	112.000
B	1104	9.000	9.000	134.00 0	3.000	19.000	20.000	11.000	3.000
B	1079	17.000	28.00	18.000	18.000	56.000	24.000	9.000	46.000

			0						
B	1062	19.000	101.0 00	23.000	8.000	12.000	8.000	31.000	191.000
B	1058	12.000	340.0 00	24.000	7.000	61.000	5.000	34.000	5.000
B	1105	87.000	16.00 0	31.000	11.000	116.00 0	42.000	21.000	8.000
B	1056	36.000	29.00 0			43.000	10.000	38.000	30.000
B	1101	7.000	22.00 0	244.00 0	3.000	15.000	3.000	8.000	2.000
B	915	47.000	11.00 0	24.000	3.000	17.000	37.000		
B	1107	18.000	26.00 0	23.000	22.000	39.000	6.000	43.000	134.000
B	980	48.000	10.00 0	93.000	27.000			199.00 0*	19.000
B	1051	8.000	6.000	8.000	10.000	5.000	8.000	5.000	9.000
B	938	27.000	8.000	37.000	3.000	14.000	4.000	19.000	4.000
B	964	62.000	25.00 0	193.00 0*	36.000	59.000	4.000	19.000	48.000
B	1111	29.000	52.00 0	21.000	19.000	23.000	37.000	27.000	21.000
B	1120	5.000	3.000			7.000	9.000	9.000	3.000
C	259	52.000	40.00 0	92.000	173.000	67.000	198.000	70.000	57.000
C	268	126.00 0*	77.00 0	197.00 0*	49.000	92.000	355.000	87.000	59.000
C	339	24.000	12.00 0	59.000	25.000	35.000	14.000	21.000	13.000
C	3715	393.00 0	114.0 00	116.00 0*	332.000	74.000	71.000	73.000	361.000
C	304	106.00 0	19.00 0	106.00 0	33.000	72.000	15.000	55.000	13.000
C	370	8.000	3.000	7.000	4.000	27.000	6.000	9.000	5.000
C	316	61.000	201.0 00	41.000	33.000	39.000	626.000	66.000	335.000
C	157	127.00 0*	30.00 0	169.00 0*	34.000			85.000	33.000
C	249	22.000	7.000	26.000	10.000	13.000	173.000	22.000	7.000
C	356	177.00 0*	38.00 0	11.000	62.000	22.000	50.000	11.000	67.000
C	364	4.000	8.000	13.000	7.000	1.000	7.000	26.000	156.000
C	293	63.000	661.0 00	101.00 0	11.000			112.00 0*	6.000
C	266	114.00 0*	43.00 0	31.000	8.000	99.000	14.000	119.00 0*	33.000
C	196	115.00 0*	30.00 0	62.000	16.000	64.000	93.000	40.000	14.000
C	369	41.000	16.00 0	13.000	14.000	51.000	37.000	23.000	20.000
C	322	35.000	36.00 0	38.000	34.000	100.00 0	35.000	29.000	46.000
C	358	88.000	354.0 00	9.000	21.000	5.000	65.000	8.000	27.000

C	351	59.000	339.000	24.000	36.000	237.000	102.000	119.000*	39.000
D	7615	205.000	14.000	44.000	35.000	53.000	11.000	52.000	57.000
D	7148	25.000	4.000	30.000	2.000	40.000	9.000	12.000	5.000
D	9319	152.000	3.000	123.000	1.000	190.000*	2.000	95.000	2.000
D	5929	53.000	12.000	51.000	10.000	87.000	4.000	208.000	20.000
E	39	97.000	38.000	60.000	23.000	53.000	192.000	98.000	63.000
E	81	65.000	101.000	54.000	19.000			46.000	32.000

Legenda:

- Verde – Secagem com selante interno.
- Amarelo – Secagem com antimicrobiano intramamário mais selante interno.
- * - Contagens abaixo das 200.000 CS/ml, mas que por opção dos produtores não foram secas apenas com selantes internos.

Anexo 2: Tabela de idades e de contraste leiteiro das vacas em estudo.

Exploração	Vaca	Idade (anos)	Ultima CCS tanque antes da secagem	Penúltima CCS tanque antes da secagem
A	8649	6	280.000	284.000
A	6357	9	222.000	352.000
A	9015	4	222.000	352.000
A	1751	4	222.000	352.000
A	5352	4	139.000	222.000
A	6152	4	307.000	267.000
A	9453	4	307.000	267.000
A	9306	3	232.000	232.000
A	5617	5	232.000	232.000
A	6182	4	232.000	232.000
A	9317	3	232.000	232.000
A	4660	3	268.000	200.000
A	9443	4	268.000	200.000
A	7689	3	268.000	200.000
A	9022	4	178.000	184.000
A	0002	5	178.000	184.000
B	975	6	145.000	187.000
B	1100	4	145.000	187.000
B	1110	4	145.000	187.000
B	914	7	145.000	187.000
B	1063	4	145.000	132.000
B	903	7	145.000	132.000
B	1055	5	171.000	181.000
B	1104	3	171.000	181.000
B	1079	4	171.000	181.000
B	1062	4	225.000	171.000
B	1058	5	225.000	171.000
B	1105	3	225.000	171.000
B	1056	4	225.000	171.000
B	1101	3	236.000	241.000
B	915	7	236.000	241.000
B	1107	3	236.000	241.000
B	980	6	236.000	241.000
B	1051	4	236.000	241.000
B	938	6	236.000	241.000
B	964	6	236.000	241.000
B	1111	3	236.000	241.000
B	1120	3	236.000	241.000
C	259	5	161.000	127.000
C	268	5	161.000	127.000
C	339	3	241.000	257.000
C	3715	8	162.000	241.000
C	304	4	162.000	241.000
C	370	3	162.000	241.000
C	316	4	162.000	241.000
C	157	8	190.000	209.000
C	249	5	190.000	209.000
C	356	3	152.000	307.000
C	364	3	152.000	307.000
C	293	5	152.000	307.000
C	266	5	152.000	307.000

C	196	7	160.000	191.000
C	369	3	160.000	191.000
C	322	4	160.000	191.000
C	358	3	146.000	131.000
C	351	3	146.000	131.000
D	7615	4	133.000	128.000
D	7148	3	181.000	191.000
D	9319	4	181.000	191.000
D	5929	3	181.000	191.000
E	39	2	148.000	143.000
E	81	3	148.000	143.000

Anexo 3: Poster científico apresentado no dia do Veterinário (4 de Outubro de 2018) em São Miguel, Açores.



Agradecimentos:



Bibliografia: Berry, E. A., & Hillerton, J. E. (2002). The effect of an intramammary teat seal on new intramammary infections. *Journal of Dairy Science*, 85(10), 2512–2520.

Krömker, V., Grabowski, N. T., & Friedrich, J. (2014). New infection rate of bovine mammary glands after application of an internal teat seal at dry-off. *Journal of Dairy Research*, 81(1), 54–58.

Vanhoudt, A., van Hees-Huijs, K., van Kneegsel, A. T. M., Sampimon, O. C., Vernooij, J. C. M., Níelen, M., & van Werven, T. (2018). Effects of reduced intramammary antimicrobial use during the dry period on udder health in Dutch dairy herds. *Journal of Dairy Science*, 101(4), 1–13.